



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
CONFÉDÉRATION SUISSE
CONFEDERAZIONE SVIZZERA

PCT/DE 00/02262

10/030500

DESD/2262

REC'D 11 SEP 2000	
WIPO	PCT

Bescheinigung

Die beiliegenden Akten stimmen mit den ursprünglichen technischen Unterlagen des auf der nächsten Seite bezeichneten Patentgesuches für die Schweiz und Liechtenstein überein. Die Schweiz und das Fürstentum Liechtenstein bilden ein einheitliches Schutzgebiet. Der Schutz kann deshalb nur für beide Länder gemeinsam beantragt werden.

Attestation

Les documents ci-joints sont conformes aux pièces techniques originales de la demande de brevet pour la Suisse et le Liechtenstein spécifiée à la page suivante. La Suisse et la Principauté de Liechtenstein constituent un territoire unitaire de protection. La protection ne peut donc être revendiquée que pour l'ensemble des deux Etats.

Attestazione

Gli uniti documenti sono conformi agli atti tecnici originali della domanda di brevetto per la Svizzera e il Liechtenstein specificata nella pagina seguente. La Svizzera e il Principato di Liechtenstein formano un unico territorio di protezione. La protezione può dunque essere rivendicata solamente per l'insieme dei due Stati.

Bern, 31. Juli 2000

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Eidgenössisches Institut für Geistiges Eigentum
Institut Fédéral de la Propriété Intellectuelle
Istituto Federale della Proprietà Intellettuale

Patentverfahren
Administration des brevets
Amministrazione dei brevetti

Rolf Hofstetter
Rolf Hofstetter

Page 19 of 19 Intellectual Property Institute

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Patentgesuch Nr. 1999 1258/99

HINTERLEGUNGSBESCHEINIGUNG (Art. 46 Abs. 5 PatV)

Das Eidgenössische Institut für Geistiges Eigentum bescheinigt den Eingang des unten näher bezeichneten schweizerischen Patentgesuches.

Titel:

Impfstoff gegen Infektionen mit Lentiviren, wie dem feline Immunschwäche-Virus der Katze.

Patentbewerber:

Universität Zürich
Rämistrasse 71
8006 Zürich

Vertreter:

Unitectra AG
Schönberggasse 2
8001 Zürich

Anmeldedatum: 08.07.1999

Voraussichtliche Klassen: A61K

PAGE BLANK (USPTO)

Impfstoff gegen Infektionen mit Lentiviren, wie dem
feline Immunschwäche-Virus der Katze.

Technisches Gebiet

5

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf
einen Impfstoff, mit dem Katzen gegen die Infektion mit
dem feline Immunschwäche-Virus geschützt werden können,
insbesondere auf einen Impfstoff auf DNA-Basis.

10

Stand der Technik

Im Jahre 1987 wurde erstmals bei Hauskatzen
15 ein Virus isoliert, welches bei infizierten Tieren zu ei-
ner Schwächung des Immunsystems führt (Pedersen et al.,
1987). Bei diesem Virus handelt es sich um das feline Im-
munschwäche-Virus (FIV), welches als Lentivirus zu den
Retroviren gehört. Das FIV ist nahe verwandt mit dem hu-
20 manen Immunschwäche-Virus (HIV), mit dem simian Immun-
schwäche-Virus der Affen (SIV), mit den Lentiviren des
Pferdes (equines infektiöses Anämievirus, EIAV) und der
kleinen Wiederkäuer (Maedi-Visna-Virus des Schafes, MVV,
und caprines Arthritis-Enzephalitis-Virus der Ziege,
25 CAEV) sowie mit dem bovinen Immunschwäche-Virus des Rin-
des (BIV). Das FIV führt wie das HIV beim Menschen durch
Abnahme der CD4-Lymphozyten im Blut im Verlauf der Er-
krankung, sowie damit einhergehend zu einer zunehmenden
Schwächung des Immunsystems (Torten et al., 1991). Wenn
30 die Zahl der CD4-Lymphozyten im Blut eine gewisse Grenze
unterschritten hat, kommt es zu einem völligen Versagen
des Immunsystems, in dessen Folge die Katzen sterben oder
eingeschläfert werden müssen. Die FIV-Infektion kommt
weltweit vor, nicht nur bei Hauskatzen, sondern auch bei
35 wilden Feliden wie zum Beispiel den Löwen in Ostafrika.
Die Häufigkeit der FIV-Infektion bei der Hauskatze vari-
iert allerdings von Land zu Land. In der Schweiz,

Deutschland und Österreich sind zwischen 3 und 4 % der erkrankten Katzen, die dem Tierarzt zur Untersuchung vorgestellt werden, mit diesem Virus infiziert. In Frankreich und England sowie gewissen Gebieten der USA liegt die Rate bei kranken, infizierten Katzen zwischen 10 und 15 %, in Japan kann sie zum Beispiel bis zu 40 % ansteigen. Damit handelt es sich bei der FIV-Infektion um eine wichtige Krankheit von veterinärmedizinischer Bedeutung. Neben dem tierärztlichen Aspekt ist die FIV-Infektion aber auch für die Humanmedizin von Interesse, da sich diese Infektion aufgrund der grossen Ähnlichkeit mit der HIV-Infektion des Menschen als Modell zum Studium der HIV-Infektion und möglicher Prävention und Therapiemöglichkeiten in hohem Masse eignet (Gardner, 1991; Jarrett et al., 1990). Für die Bekämpfung der FIV-Infektion sind Tierärzte und Tierbesitzer bislang ausschliesslich auf den Nachweis der Infektion mittels immunologischer Tests und Abtrennung infizierter Tiere von nicht infizierten angewiesen. Eine Impfung, die es erlaubt, Katzen gegen die FIV Infektion zu schützen ohne gleichzeitig Antikörper zu induzieren, die zu falsch-positiven Reaktionen im Test führt, mit dem die FIV Infektion nachgewiesen wird, existiert zur Zeit nicht.

Der natürliche Schutz vor Infektionskrankheiten beruht auf der Wiedererkennung von Strukturen erfolgreich bekämpfter Erreger durch die Zellen des adaptiven Immunsystems. Dabei können zwei Hauptaktivitäten unterschieden werden. Auf der einen Seite ist dies die Aktivität des humoralen Immunsystems, welches auf der Synthese von Antikörpern durch B-Lymphozyten beruht. Neben dem humoralen Immunsystem kennt man auf der anderen Seite das zelluläre Immunsystem, welches auf der Aktivität vor allem von T-Lymphozyten beruht. Diese T-Lymphozyten sind in der Lage, mit Viren infizierte Körperzellen als „fremd“ zu erkennen. Je nach spezieller Funktion der T-Zelle amplifiziert und modifiziert diese dann das Signal der Fremderkennung (T-



Helferzellen), oder leitet direkt die Lyse der als fremd oder infiziert erkannten Zelle ein (zytotoxische T-Zellen). Für das Funktionieren der Immunantwort ist die korrekte Kooperation des humoralen mit dem zellulären Immunsystem entscheidend. In den letzten zehn Jahren wurde klar, dass der zelluläre Arm des Immunsystems durch Aktivierung von sog. Typ-1-Helferzellen und der humorale Arm durch Aktivierung von sogenannten Typ-2-Helferzellen induziert wird (Mosmann et al., 1986). Entsprechend dieser Bezeichnung der Helferzellen wird der zelluläre Arm auch als TH1 pathway und der humorale Arm als TH2 pathway des Immunsystems bezeichnet.

Zur Lösung der einleitend geschilderten Probleme wurde auf die Immunisierung mit DNA zurückgegriffen (Ulmer JB et al. 1993). Diese mittlerweile intensiv erforschte Methodik bedient sich der Vakzinierung durch endogen exprimierte Antigene, welche intrazellulär verarbeitet und dem Immunsystem präsentiert werden. Neben bestimmten technischen bzw. ökonomischen Vorteilen, die die Immunisierung mit DNA gegenüber der Herstellung attenuierter oder rekombinanter Impfstoffe bietet, hat der Ansatz eine Reihe biologischer Vorteile. Vor allem fällt darunter die Möglichkeit, durch Koexpression geeigneter Zytokine oder Beibringung signalvermittelnder Stoffe die Entstehung einer Typ-1 oder Typ-2-Antwort in den Immunzellen selbst zu beeinflussen.

Zur Beibringung der DNA-Expressionskonstrukte ist eine Reihe von Verfahren bekannt. Die der ballistischen Transfektion von Zielzellen ist in den Schriften WO91/00539 EP 500799 beschrieben. Ein Apparat hierzu ist in WO95/19799 offenbart.

Die Impfung durch direkte Injektion nackter DNA ist in US 5,580,859, US 5,589,466 sowie US 5,593,972 offenbart.

Ein Nachteil der im Moment zur DNA-Immunisierung verwendeten Vektoren besteht darin, daß

entweder Vektoren viralen Ursprungs eingesetzt werden, welche vom Aspekt der Sicherheit Probleme aufwerfen können (Gunzburg WH und Salmons B, 1995) oder Plasmide eingesetzt werden, die zwar epidemiologisch als
5 vollkommen sicher zu gelten haben und immunologisch viralen Ansätzen weit überlegen sind, die allerdings dennoch Sequenzen enthalten, die zur Wirksamkeit der immunisierenden Expressionskassette keinen Beitrag liefern. Unter diese Sequenzen fallen alle zur Vermehrung
10 in Bakterien benötigten Sequenzen wie Antibiotikaresistenzgene, Replikationsursprünge und ähnliche. Die Problematik wird in WO98/21322 ausführlich diskutiert.

Zudem ist die Entstehung von Immunantworten
15 durch DNA-Immunisierung erheblich von der Menge und Beschaffenheit der inokulierten DNA abhängig. In Abhängigkeit von der Methode der Beibringung erfordert dabei die Immunisierung zwischen <1µg DNA und >100µg DNA bei Mäusen. Bei großen Mengen DNA kann die Anwesenheit
20 von ISS (ISS = immunstimulatorischen Nukleinsäuresequenzen) wie den CpG-Sequenzen (CpG = unmethyliertes Cytosin-Guanosin) im Ampicillin-resistenzgen die Qualität der Immunantwort erheblich beeinflussen, die ISS-Motive wurden überhaupt erst durch
25 ein dies kontrollierendes Experiment zufällig gefunden (Nature 1995 Apr 6;374(6522):546-9 CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. Krieg AM, Yi AK, Matson S, Waldschmidt TJ, Bishop GA, Teasdale R, Koretzky GA, Klinman DM). So wird bei DNA-Immunisierung
30 mittels „Gene Gun“, bei der sehr geringe Mengen DNA zur Immunisierung in den Körper des Patienten gebracht werden, typischerweise eher ein TH2-Profil der induzierten Immunantwort gefunden, während bei Injektion nackter DNA in den Muskel, bei der viel größere Mengen
35 DNA eingesetzt werden, eher ein TH1-Profil beobachtet wird.

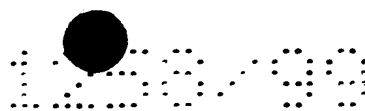


In bezug auf die immunstimulatorischen Nukleinsäuresequenzen („ISS“) ist seit einigen Jahren bekannt, daß bestimmte kurze Nukleinsäuresequenzen eine erhebliche physiologische Wirkung aufweisen können, indem sie über bisher unbekannte Mechanismen Effektorzellen des Immunsystems stark stimulieren. Diese ISS sind nur einige Basen lang und wirken nicht über die Expression von auf ihnen kodierten Proteinen. Die meisten bekannten immunmodifizierenden kurzen Oligodesoxyribonukleotidsequenzen („ODN“) enthalten ein unmethyliertes Cytosin-Guanosin-Motiv (CpG-Motiv). Es wird angenommen, daß die Erkennung dieses Motives durch bisher nicht aufgeklärte Erkennungsmechanismen in der eukaryoten Zelle zu einer Art Notrufmechanismus führt, der eine gegen virale oder bakterielle Erreger gerichtete Reaktion auslöst (Literatur zusammengestellt in W098/1810). Gemäß diesem Erklärungsvorschlag soll die Erkennung von CpG-Motiven, deren Vorkommen im Genom von Eukaryonten gegenüber dem von Prokaryonten erheblich unterdrückt ist, dem höheren Tier als „Warnsignal“ dienen. Das Vorhandensein der CpG-Motive signalisiert nach dieser Theorie eine Infektion durch prokaryote Erreger, und deren Erkennung ermöglicht eine Bekämpfung unabhängig von bzw. vor der Ausbildung einer T-Helferzell-vermittelten Immunantwort. Die T-Helferzell-unabhängige Stimulierung und Proliferation von B-Zellen wird dadurch ermöglicht, daß für T-Zell- und B-Zell-Aktivierung notwendige kostimulatorische Signale, vor allem die Sekretion von Cytokinen der zellulären Typ 1-Antwort (TH1-spezifische Cytokine wie Interferon gamma, IL-2, IL-12), durch die CpG-abhängigen Signalwege bereitgestellt werden. Außerdem wird durch ISS die Aktivität von NK-Zellen und Makrophagen erhöht. Die Aktivität der Typ-2 Cytokine (IL-4, IL-10) wird demgegenüber unterdrückt, wahrscheinlich durch einen Antagonismus zwischen TH1- und TH2-Antwort (Lipford et al. 1997, Chu et al. 1997).

Es ist für HIV und andere Lentiviren postuliert worden, dass der Verlauf der Infektion wesentlich von der offenbar sehr früh nach Viruskontakt getroffenen „Entscheidung“ des Immunsystems für eine Typ1- oder Typ2-Antwort abhängt (Romagnani et al. 1994). So findet man bei Patientengruppen, die nach Infektion relativ lange eine hohe CD4-Helferzellzahl im Blut zeigen, auch hohe zytotoxische Aktivität gegen HIV-spezifische Antigene. Es ist auch bei einigen, wahrscheinlich mit dem Virus in Kontakt gekommenen Patienten, die dennoch HIV-Antikörper-negativ blieben, ebenfalls eine HIV-spezifische Typ-1-Antwort gezeigt worden. Dies führte zu der Vermutung, daß die Induktion einer zytotoxischen Antwort gegen lentivirale Antigene im Wege einer Impfung die Infektion mit den entsprechenden Erregern verhindern könne. Ein Beweis dieser Vermutung - resp. ein tauglicher Impfstoff - ist allerdings bisher nicht geliefert worden.

Aus dem Gebiet der Forschung zur humanen HIV-Infektion ist bekannt geworden, dass die Expression oder Blockade bestimmter Chemokinrezeptoren den Verlauf der Infektion der Zielzellen erheblich beeinflussen kann (Mackewicz CE, et al. 1996). Es wurde weiterhin vermutet, daß auch die Expression von IL-16 zur Inhibition der HIV-Replikation beitrage und damit einen Beitrag zu einer möglichen Schutzwirkung liefern könne (Idziorek T, et al., 1998; Amiel et al. 1999,; Zhou et al. 1997).

Einen Impfstoff, mit dem Katzen unter Feldbedingungen gegen diese Infektion geschützt werden können und der mit dem Nachweisverfahren der Infektion nicht interferiert, gibt es - trotz zahlreicher Versuche - zur Zeit nicht. Es wurde versucht, Katzen gegen die FIV-Infektion zu impfen unter Verwendung von FIV-infizierten, in Kultur vermehrten Zellen, die vor Injektion mit Formalin inaktiviert wurden (Yamamoto et al., 1993; Yamamoto et al., 1991, siehe auch Yamamoto: US 5,275,813, 4.1.94, sowie US 5,510,106, 23.4.96). Eine



ähnliche Erfindung ist auch aus Tompkins et al., US 5,413,927 bekannt. Solchermassen geimpfte Katzen entwickelten jedoch Antikörper gegen die verschiedenen Virusproteine des FIV. Diese Antikörper reagieren mit den heute eingesetzten diagnostischen Verfahren (Tonelli, 1991), weshalb bei einer solchen Katze aufgrund eines Tests nicht unterschieden werden kann, ob die Katze an einer Infektion leidet oder vakziniert worden war. Um einen Impfstoff zur Verfügung zu haben, der bei den geimpften Tieren nicht zu einem falsch-positiven Test führt und damit keine vorbestehende Infektion mit dem FIV vortäuschen soll, wurde von verschiedenen Gruppen seit Jahren versucht, durch Verwendung eines mit Verfahren der Gentechnologie hergestellten Hüllglykoproteins des FIV und unter Einbezug geeigneter Adjuvantien einen Impfstoff zu entwickeln. Der Erfinder der vorliegenden Anmeldung hatte dabei die ersten Experimente in dieser Richtung unternommen. Die ersten Versuche schützten zwar nicht vor einer Testinfektion, liessen aber erkennen, dass bei vakzinierten Tieren eine partielle Immunität vorgelegen hatte (Hofmann-Lehmann et al., 1995; Lutz et al., 1995). Ein späteres Experiment führte zu einem klar objektivierbaren Teilschutz bei einer der geimpften Gruppen (Leutenegger et al., 1998; Lutz et al., 1996). Ein weiteres Experiment, in welchem Katzen mit rekombinantem FIV-Hüllglykoprotein vakziniert wurden, welches vorgängig mit Lymphozyten zusammen mit Formalin inaktiviert worden war und unter Verwendung verschiedener Adjuvantien zur Immunisierung eingesetzt wurde, zeigte keinen Erfolg (Boretti and F., 1999). Die Arbeit anderer Forschergruppen über die Verwendung von rekombinantem Hüllglykoprotein als Vakzine-Antigen ist umfassend dokumentiert (Huisman et al., 1998; Osterhaus et al., 1996; Richardson et al., 1997). Allerdings gelang es auch diesen bislang nicht, unter Verwendung solcher Hüllglykoproteine oder der dafür kodierenden DNA einen

Schutz zu erzielen (Osterhaus et al., 1996; Richardson et al., 1997; Richardson et al., 1998).

Rekombinante Impfstoffe gegen FIV sind weiterhin aus dem Patent von Wasmoen et al., US 5,849,303
5 bekannt.

Die Verwendung von IL-12 als Adjuvans bei Menschen ist aus US 5,571,515 bekannt.

Die Lehre von Gebrauch und Herstellung immunstimulatorischer, CpG-enthaltender ISS ist in der
10 Anmeldung WO 98/18810 sowie den darin zitierten Schriften umfassend erläutert.

Kovalent geschlossene hantelörmige Expressionskonstrukte aus DNA sind aus Wittig et al., WO 98/21322 bekannt. Der Offenbarungsgehalt aller genannten
15 Schriften soll als Teil der hier vorgelegten Beschreibung angesehen werden.

Trotz der vielen Arbeiten auf diesem Gebiet, gibt es bisher noch keinen guten und nachweisbaren Impfschutz für Katzen vor Infektion mit FIV.

20 Ziel der vorliegenden Erfindung war es deshalb, einen Impfstoff bereitzustellen, welcher einen Schutz gegen Erkrankung infolge von FIV-Infektion zu induzieren vermag, wobei die Impfung vorzugsweise so zu gestalten war, dass geimpfte Tiere durch ihren
25 Antikörperstatus von erkrankten oder infizierten Tieren unterschieden werden können.

Darstellung der Erfindung

30

Erfindungsgemäss wird dieses Ziel dadurch erreicht, dass Tiere, insbesondere Säugetiere wie Katzen, mit einer DNA-Sequenz immunisiert werden, welche das Hüllglykoprotein sowie einen Teil jenes Gens enthält,
35 welches für das Transmembranprotein kodiert. In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden der Impfmischung geeignete Adjuvantien beigegeben, die eine

zytotoxische Immunantwort hervorrufen, beispielsweise Zytokine der TH1-Antwort, Zytokin-kodierende DNA-Expressionskonstrukte oder immunstimulatorische DNA Sequenzen.

5

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

Figur 1 zeigt die Resultate der FIV-RNA
10 Quantifizierung im Plasma der Katzen.

Figur 2 ist eine Zusammenstellung von Poly- und Oligonukleotidsequenzen, die im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendbar sind.

15

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

Zur Lösung der einleitend geschilderten Probleme wurde auf die Immunisierung mit DNA
20 zurückgegriffen, zu der bereits oben Ausführungen gemacht worden sind (siehe z.B. Ulmer JB et al. (1993), WO91/00539, EP 500799, WO95/19799, US 5,580,859, US 5,589,466 sowie US 5,593,972).

Die erfindungsgemässe Vakzine zur
25 Schutzimpfung oder Therapie einer Lentiviren-Infektion, insbesondere der FIV-Infektion bei Katzen, zeichnet sich aus durch das Vorhandensein einer immunisierenden Polynukleotidsequenz, die mindestens eines Teils des Gens des Hüllproteins (env-Gen) des entsprechenden Lentivirus,
30 insbesondere des FIV, unter der Kontrolle eines in dem entsprechenden Tier, insbesondere Katzen, operablen eukaryonten Promoters enthält oder daraus besteht. Mindestens ein Teil des env-Gens bedeutet, dass ein oder mehrere Teile des env-Gens oder auch das ganze env-Gen
35 vorhanden sind. Die Teile des env-Gens müssen zumindest einen so grossen Teil des Hüllproteins codieren, dass eine Immunantwort hervorgerufen wird.

Eine solche Vakzine enthält vorzugsweise eine immunisierende Polynukleotidsequenz mit der die extrazellulär resp. ausserhalb des Virus gelegene Domäne des env-Genprodukts sowie mindestens zwanzig Aminosäuren des Transmembrananteils des env-Genprodukts kodierenden Sequenz.

Nukleotidsequenzen, die in der vorliegenden Erfindung verwendbar sind und im Rahmen der Beispiele verwendet wurden, sind in SEQ ID NO 1 (FIV gp140), SEQ ID NO 2 (IL-12p40), SEQ ID NO 3 (IL-12p35), SEQ ID NO 4 (IL-16), SEQ ID NO 5 (CpG) und SEQ ID NO 6 (CpG) in einem gesonderten als "Figur 2: Sequenzprotokoll" gekennzeichneten Teil zu finden.

Eine bevorzugte Vakzine enthält als minimalen Teil der immunisierenden Polynukleotidsequenz, die unter SEQ ID NO 1 angegebene Sequenz oder eine mit der unter SEQ ID NO 1 angegebenen Sequenz zu mindestens 85% identische Sequenz oder eine Sequenz, die ohne die Entartung des genetischen Codes mit der in SEQ ID NO 1 angegebenen Sequenz zu mindestens 85 % identisch ist. Die Ähnlichkeit auf Nukleinsäurebasis wurde mit dem Programm MacMolly Complign Version 3.8 und den Parametern „gap penalty = 3“ sowie „mismatch penalty = 1“ berechnet.

Selbstverständlich schliessen die oben angegebenen Sequenzen auch die Komplementärsequenzen ein.

In einer Ausführungsform der Erfindung enthält die Vakzine zusätzlich mindestens eine und bevorzugt zwei Hilfs-Polynukleotidsequenzen. Diese Hilfs-Polynukleotidsequenz enthält die für IL-12 codierende Sequenz, insbesondere - für die Behandlung von Feliden, speziell Hauskatzen - die für beide Untereinheiten des feline IL-12 codierende Sequenz, unter der Kontrolle eines oder mehrerer im entsprechenden Tier operablen eukaryonten Promoter, und/oder die für IL-16 codierende Sequenz, insbesondere - für die Behandlung von Feliden, speziell Hauskatzen - die für das feline IL-16 codierende

Sequenz, unter der Kontrolle eines im entsprechenden Tier operablen eukaryonten Promoters.

In einer weiteren Ausführungsform der Vakzine kann diese die für IL-12 codierenden Sequenzen, z.B. die Sequenzen, die für die beiden Untereinheiten des feline IL-12 codieren, und die Sequenz, die für IL-16, z.B. das feline IL-16, codieren in der gleichen Hilfs-Polynukleotidsequenz und unter der Kontrolle eines oder mehrerer im entsprechenden Tier, z.B. der Katze, operablen eukaryonten Promoter enthalten.

In einer weiteren Ausführungsform enthält die Vakzine eine Hilfs-Polynukleotidsequenz, welche mindestens eine Sequenz der Basenfolge $N^1N^2CGN^3N^4$ aufweist, wobei N^1N^2 ein Element aus der Gruppe GT, GG, GA, AT oder AA und N^3N^4 ein Element aus der Gruppe CT oder TT bedeutet. Dabei haben C, G, A und T die übliche Bedeutung, nämlich C Cytosin, G Guanin, A Adenin und T Thymin. Im anschliessenden Beispiel wurde 5'-phosphoryliertes Oligodesoxynukleotid der Sequenz 5'-GTTCTTCGGG GCGTTCTTTT TTAAGAACGC CCC sowie ebenfalls 5'-phosphoryliertes Oligodesoxynukleotid der Sequenz 5'-GAAGAACGTT TTCCAATGAT TTTTCATTGG AAAAC in äquimolaren Mengen in einer Gesamtkonzentration von 1 mg DNA pro ml Lösung mit T4-DNA-Ligase in Anwesenheit von 1 mM ATP umgesetzt. Nach vollständiger Ligation wurden nichtumgesetzte Edukte durch Reaktion mit T7-DNA-Polymerase in Abwesenheit von dNTPs verdaut und das Produkt nach Reinigung über Anionen-Austausch-HPLC erhalten.

Bevorzugte Sequenzen, die in der Vakzine, insbesondere für die Behandlung von Katzen, enthalten sein können sind die Sequenzen gemäss SEQ ID NO 2 (IL-12), SEQ ID NO 3 (IL-12), SEQ ID NO 4 (IL-16), SEQ ID NO 5 (CpG). oder SEQ ID NO 6 (CpG).

Die Polynukleotidsequenzen resp. Expressionskonstrukte, sowohl der immunisierenden als auch der Hilfs-Polynukleotidsequenz können aus kovalent

geschlossenen linearen Desoxyribonukleinsäuremolekülen bestehen, welche einen linearen Doppelstrangbereich aufweisen und welche doppelstrangbildenden Einzelstränge durch kurze einzelsträngige Schleifen aus

- 5 Desoxyribonukleinsäurenukleotiden verknüpft sind. Solche Konstrukte bestehen vorzugsweise nur aus der kodierenden Sequenz unter Kontrolle eines im Impfling operablen Promotors und einer Terminatorsequenz.

- Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden
10 Erfindung ist ein Verfahren zur Impfung oder Therapie der Lentivireninfektion, insbesondere der FIV-Infektion bei Katzen, die dadurch gekennzeichnet ist, dass Polynukleotidsequenzen, wie sie oben beschrieben wurden, auf einem geeigneten Trägermaterial aufgebracht, auf die
15 Haut des Tieres, insbesondere der Katze, beschleunigt wird, in die Zellen der Haut des Tieres eindringt und dort exprimiert wird. Ein bevorzugtes Trägermaterial ist Gold, wobei aber auch andere, massereiche und inerte Materialien geeignet sind.

- 20 Neben der oben beschriebenen Impfmethode für die Applikation der erfindungsgemässen Impfstoffzusammensetzungen können auch andere Applikationsmethoden eingesetzt werden, bei denen die in der Diskussion des Stands der Technik beschriebenen
25 Nachteile zumindest zum Teil vermindert und vorzugsweise nicht vorhanden sind. Solche Applikationsmethoden sind beispielsweise Verabreichung der Polynukleotidsequenzen in wässriger Lösung z.B. durch Injektion in die Muskulatur.

- 30 Da die Rolle einer zytotoxischen Antwort theoretisch als wichtig angesehen wird und die Entstehung einer solchen Antwort von einer effizienten Genexpression mit möglichst geringer Beteiligung inadwertent exprimierter Proteine provoziert werden sollte, wurde im
35 Rahmen des nachfolgenden Beispiels die Beibringung der Vakzine mittels ballistischem Transfer in Form von

minimalistischen DNA-Expressionskonstrukten als gegenwärtig bevorzugte Beibringungsmethode verwendet.

Ziel des mittels des ballistischen Transfers durchgeführten Versuches war es, die Entwicklung der Immunantwort soweit wie möglich hinsichtlich der Komponenten zu differenzieren, die den essentiellen Beitrag zur Schutzwirkung liefern. Diese Aufgabe ist bei der Katze weitaus schwerer zu lösen als beispielsweise beim Menschen oder der Maus. Es kann bei immunologisch gut erforschten Spezies z.B. über die Typisierung der im Laufe der Impfung entstehenden Antikörper (IgG Subtyp 1 ist Immunantwort-Typ-2-spezifisch, Subtyp IgG2b ist Typ-1-spezifisch) viel über den zugrunde liegenden Antworttyp ausgesagt werden. Wenn man von der Tragfähigkeit des Typ-1/Typ-2-Paradigmas ausgeht, liefert diese Information Aufschlüsse hinsichtlich der Wirksamkeit und Richtung einer Vakzinierung, auch ohne dass ein Versuch der Infektion und Überprüfung des Schutzes stattgefunden hätte. Auf diese Weise läßt sich die bevorzugte Komposition und Beibringungsmethode zum Erreichen einer hypothetisch prophylaktischen Immunantwort mit viel geringerem Aufwand erreichen, als wenn jede Modalität der Impfung mit einem Infektions-/ Schutzexperiment untersucht wird. Es ist bei der Katze beim gegenwärtigen Wissensstand leider nicht möglich, solche Voraussagen mit dem gleichen Grad an Sicherheit zu treffen, wie dies bei Spezies wie dem Menschen oder der Maus der Fall wäre. Selbst grundlegende Paradigma wie die Typ1-Typ2 Dichtomie sind für die Katze nicht belegt. Die große Übereinstimmung vieler grundlegender Immuncharakteristika zwischen Mensch und Maus ist in vielen Fällen auf diese beiden Spezies beschränkt und nicht auf andere übertragbar. Um so überraschender war der große Erfolg der hier probierten Regimes.

Eine patentgemässe Vakzine kann anstelle von Polynukleotiden auch Proteine resp. Glykoproteine enthalten, welche durch die in der vorliegenden

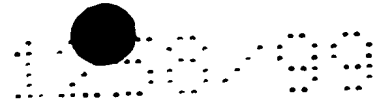
Anmeldung, z.B. im Beispiel 1, beschriebenen Nukleotidsequenzen oder ähnliche Sequenzen kodiert werden. Ein auf Proteinbasis beruhendes Vakzineexperiment wurde in der Arbeit von Leutenegger et al (1998) im
5 Detail beschrieben. In jenem Beispiel gelang es zwar, unter Verwendung eines handelsüblichen Adjuvans (QS-21) bei einigen Katzen einen Teilschutz zu erzielen, die Resultate waren aber unbefriedigend. Durch den Zusatz von Zytokinen (IL-12 und/oder IL-16) in der Form von
10 Proteinen als Adjuvantien, gemäss der vorliegenden Erfindung, kann die Wirkung von Vakzinen auf Proteinbasis wesentlich verstärkt werden. Für solche Vakzinen geeignete Proteine, z. B. Proteine des FIV oder immunisierende Teile derselben, sowie die Zytokine IL-12
15 und IL-16 können in Bakterien (z.B. E.coli), in Hefen, in Säugerzellen (z.B. CHO-Zellen), in Insektenzellen (z.B. Zellen von *Heliothis zea*, ATCC No. CRL-9281) oder in Pflanzen (z.B. Tabakpflanze) exprimiert und daraus gereingt werden.

20 Die Erfindung wird nun anhand eines konkreten Beispiels, das die in den Ansprüchen definierte Erfindung aber in keiner Weise einschränken soll, weiter erläutert.

25 **Beispiel:**

Es wurden fünf Impfregimes formuliert. Grundantigen in allen Gruppen (mit Ausnahme der Kontrollgruppe) war das gp140-SU-Antigen, das
30 Hauptprodukt des env-Genes des FIV.

Das hier erwähnte Genkonstrukt soll generell als gp140-DNA bezeichnet werden. Um die Nützlichkeit dieses gp140-DNA-Konstruktes zu prüfen, wurde folgendes Experiment angestellt: Es wurden sechs Gruppen à je vier
35 Katzen eingesetzt, die mit verschiedenen Präparationen von gp140-DNA und ggf. DNA-kodierten Adjuvantien, in einem Fall auch nicht-kodierender adjuvanter DNA,



immunisiert wurden. Die DNA-Konstrukte waren die oben erwähnten minimalistischen Expressionskonstrukte, bestehend lediglich aus der kodierenden Sequenz, vor welche noch die Sequenz des Zytomegalo-Virus-Promotors (CMV) gestellt worden war. Die kodierende Sequenz und der CMV-Promotor wurden als lineare Doppelstrangmoleküle verwendet, die beidseitig kovalent abgeschlossen wurden, um einer extra- oder intrazellulären Degradation durch Exonukleasen vorzubeugen. Die DNA-Konstrukte wurden auf kleine Goldpartikel adsorbiert, welche direkt in die Haut der Versuchstiere eingeschossen wurden. Die Tiere wurden dreimal im Abstand von drei Wochen mit den entsprechenden Konstrukten beschossen, wobei die DNA pro Schuss auf 1 mg Gold aufgezogen wurde. Zur Immunisierung wurde eine Helios gene-gun (Biorad, München, D) und ein Druck von 500 psi verwendet. Die gesamte DNA-Dosis betrug 2 µg pro Tier pro Impfung. Vier Wochen nach der dritten Immunisierung wurden die Tiere einer Testinfektion mit dem für die Gewinnung des Vakzineantigens verwendeten FIV-Stamm (Stamm Zürich 2, (Morikawa et al., 1991)) infiziert. Als Infektionsdosis für die Testinfektion wurde die 25fache Menge jener Konzentration verwendet, welche bei 50 % der Katzen zur Infektion führen würde (cat infective dose 50 = CID₅₀). Bei den verschiedenen Gruppen handelte es sich um die folgenden:

Tabelle 1: Zusammensetzung der Vakzinegruppen

Gruppe Nr.	Vakzine enthielt:	Fragestellung
1	nur Goldpartikel	negative Kontrollen, bei diesen Katzen wurde kein Schutz erwartet
2	gp140-DNA	Wirksamkeit des gp140-DNA-Konstrukts allein
3	gp140-DNA + IL-12-DNA	Abklärung der Wirkung von IL-12 im Vergleich zur Gruppe 2

4	gp140-DNA + IL-16-DNA	Abklärung der Wirkung von IL-16 im Vergleich zur gp140-DNA allein (Gruppe 2)
5	gp140-DNA + IL-12-DNA + IL-16-DNA	Abklärung des kombinierten Effektes der IL-12- und IL-16-DNA im Vergleich zur Gruppe 3 respektive Gruppe 4
6	gp140-DNA + CpG	Abklärung des Effektes von CpG

Der Schutzeffekt der verschiedenen Vakzine-Präparationen wurde durch Messung der folgenden Parameter jeweils in wöchentlichen Abständen (Ausnahme: Messung des RNA Loads, nur in Woche 5) bestimmt:

1. Antikörper gegen das Transmembran-Protein (TM) wurden mittels eines ELISA-Verfahrens bestimmt.

2. Die Menge der FIV-RNA im Plasma dieser Katzen wurde mittels eines TaqMan®-PCR-Verfahrens bestimmt.

3. Die Menge der in die DNA der Lymphozyten eingebauten FIV-DNA, die sogenannte Provirus-DNA, wurde mittels eines TaqMan®-Verfahrens bestimmt (Leutenegger et al. 1999).

Die Resultate können wie folgt zusammengefasst werden:

1. *Serokonversion gegen TM*: Der Verlauf der Serokonversion ist in Tabelle 2 (siehe hinten) zusammengefasst. Daraus geht hervor, dass die Tiere der Kontrollgruppe 1 ausserordentlich stark serokonvertierten, was auf eine hohe

Virusreplikationsrate schliessen lässt. Ab der fünften



Woche waren hier vier von vier Tieren seropositiv. In der Gruppe 2 kam es nur allmählich zur Serokonversion, und der Grad der Serokonversion war wesentlich geringer als in der Gruppe 1. In der Gruppe 2 waren auch noch in der neunten Woche nicht alle Tiere seropositiv. Dies lässt auf eine verringerte Virusvermehrung schliessen, was mit einem Schutz vereinbar ist.

In der Gruppe 3 serokonvertierte bis in die siebte Woche lediglich ein Tier, die anderen blieben völlig negativ. Dies deutet darauf hin, dass bei drei von vier Tieren ein kompletter Schutz erzielt worden ist. Beim einen positiven Tier kam es aufgrund der im Vergleich zu den Tieren der Gruppe 1 verringerten Serokonversion nur zu einer mässigen Virusvermehrung. In der Gruppe 4 serokonvertierten bis zur siebten Woche zwei von vier Tieren. Auch hier kam es nur zur Bildung geringer Antikörpermengen, was ebenfalls auf eine geringgradige Virusvermehrung schliessen lässt. Die Kombination von IL-12 und IL-16 erwies sich dagegen - was die Serokonversionsrate anbelangt - als weniger wirksam. Hier zeigten bis zur siebten Woche vier von vier Tieren Serokonversion.

Für die Gruppe 6 gilt die gleiche Aussage wie für die Gruppe 5. Auch hier serokonvertierten vier von vier Tieren bis zur siebten Woche.

2. *FIV-RNA-Virusload im Plasma:* Die Resultate der FIV-RNA-Quantifizierung im Plasma der Katzen sind in Figur 1 zusammengestellt. Die Resultate können wie folgt kommentiert werden:

Gruppe 1: Hier war der RNA-Virusload am höchsten.

Gruppe 2: Die mit der gp140-DNA vakzinierten Katzen zeigten einen signifikant geringeren RNA-Virusload als die Tiere der Kontrollen; daraus kann abgeleitet werden, dass allein der gp140-Konstrukt schon einen

~~Teilschutz zu induzieren vermag. Diese Resultate sind~~

in Übereinstimmung mit der Serologie.

Gruppe 3: Zufügung von IL-12 zur gp140-DNA zeigte bis zur fünften Woche einen vollständigen Schutz der Katzen gegen Virus im Blut. Auch diese Resultate stimmen mit den Beobachtungen der Serologie überein.

Gruppe 4: Die Zugabe von IL-16-DNA führte ebenfalls zu einem eindrücklichen Schutz, indem bis zur fünften Woche auch hier keine Viren im Plasma nachgewiesen werden konnten.

Gruppe 5: Die Zugabe von IL-12 und IL-16 erwies sich als weniger gut als IL-12 oder IL-16 allein. In der fünften Woche konnten bei drei von vier Tieren RNA im Plasma nachgewiesen werden. Allerdings war auch hier die Menge gegenüber den Kontrollkatzen der Gruppe 1 signifikant geringer.

Gruppe 6: Die Verwendung der CpG zeigte ebenfalls einen Teilschutz auf. Allerdings liessen sich in der fünften Woche bei allen Tieren geringe Mengen von FIV-RNA nachweisen.

3. Menge der proviralen DNA: Die

Resultate der Quantifizierung der proviralen DNA-Menge aller Katzen ist in Tabelle 3 (siehe hinten) zusammengestellt. Die Resultate lassen sich wie folgt kommentieren:

Gruppe 1: Wie bei der Serologie und der RNA-Messung erwiesen sich auch hier die Tiere der Gruppe 1 als voll empfänglich für die Testinfektion.

Gruppe 2: Auch die Tiere der Gruppe 2 wurden ausnahmslos Provirus-positiv, die mittlere FIV-Provirus-Menge war jedoch nur unwesentlich geringer als jene der Kontrollgruppe.

Gruppe 3: Wie zuvor für die Serologie und die RNA-Menge beobachtet, erwies sich auch hier die Menge der proviralen DNA als am geringsten. Nur 1 von 4 Tieren wurde Provirus-positiv, die andern 3 wurden überhaupt nicht infiziert.

Gruppe 4: Auch die IL-16-DNA führte zu einem verminderten Provirus-Load, der auch in der sechsten Woche noch signifikant geringer war als jener der Kontrolle.

5 Gruppe 5: Erstaunlicherweise erwies sich der Provirus-Load bei Tieren, die die Kombination von IL-12 und IL-16 erhalten hatten, als sehr gering. Daraus kann abgeleitet werden, dass IL-12 und IL-16 auf die Integration der Provirus-Menge einen signifikanten
10 Schutzeffekt aufweist.

Gruppe 6: Erstaunlicherweise war der Effekt der CpG-Zugabe auf die Provirus-Menge ebenfalls ausserordentlich ausgeprägt. In der sechsten Woche liessen sich nur Spuren von integriertem Provirus
15 nachweisen. Diese Resultate stehen etwas im Widerspruch zu den Befunden der RNA-Messung. Sie lassen sich eventuell dadurch erklären, dass CpGs mithelfen, eine Integration des Virus in die DNA der Wirtszelle zu hemmen.

20 Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass überraschenderweise festgestellt wurde, dass die Verwendung von gp140-DNA und verschiedener Zusätze einen unterschiedlich hohen Schutzeffekt zu induzieren vermag. Der Schutzeffekt äussert sich einerseits in einer
25 geringeren Virusreplikation, was zu geringem oder vollständigem Fehlen der Serokonversion führt und/oder zu geringerer Integration der viralen DNA in die Wirtszell-DNA.

Tabelle 2: FIV Vakzine Experiment, TM-ELISA Resultate

Katze	Gru.	Woche nach Testinfektion													
		-7	-5	-3	0	1	2	3	4	5	6	7	8	10	
2916	1	0.7	0	0	0	0.3	0.1	0	1.6	70.9	92.2	86.2	85.9	85.9	
2932	1	1.2	0.3	0.2	0	0.8	0.4	0	1.6	59.8	78.6	96.2	65.6	65.6	
381	1	0.6	1.3	0.1	0	0.4	0.2	0	5.3	78	95.3	72.6	89.3	89.3	
384	1	0	1	0.1	0	0.4	0.7	0	10.7	83.8	90.7	78.7	79.4	79.4	
2924	2	0	0.3	0	0	0.04	0.8	0.4	1.9	76.4	94.3	88.7	88.3	88.3	
2947	2	0	1	0.5	0	0.4	0.6	0	0	0.4	1.3	0	60.4	60.4	
379	2	0.6	0.9	0.1	0	0	0.4	0	0.4	0.8	16.7	31.6	82.4	82.4	
393	2	0	0.3	0	0	0	0	0	0.8	66.7	85.7	63.6	90	90	
2917	3	0	1.2	0.2	0	0	0.2	0	0	0.1	1.1	0	0.9	0.9	
2943	3	0	0.8	0	0	0	0.8	0	0	0	0.9	0	0.8	0.8	
377	3	1	2.4	2.3	0	2.6	0.4	0	1.6	0	2.1	0	0.5	0.5	
388	3	0	0.2	0	0	0.4	0.1	0	0	54.6	86.6	68.8	80.1	80.1	
2922	4	0	0.5	0	0	0.5	0	0	0	0	2.6	0	1.1	1.1	
2933	4	0	0.7	0	0	0.3	0.1	0	0	6.7	88.2	86.6	80.4	80.4	
382	4	0.7	1.4	1.4	0	0	0.7	0	1	0.1	1.4	3	64.3	64.3	
394	4	0.2	1	0.4	0	0	0.3	0	0.4	0.05	39.9	45.7	74.6	74.6	
2923	5	0	0.2	0	0	0	0.2	0	0.9	2.6	49.4	41.3	74.4	74.4	
2959	5	0.08	0.6	0	0	0	0.3	0	47.5	88.5	97.2	93.4	79.1	79.1	
378	5	0.4	1.9	0.2	3.6	0	0.3	0	2.9	50	99.2	77.4	81.6	81.6	
389	5	0.08	0.2	0	0	0	0.2	0	0.3	38.3	89.4	73.3	97.8	97.8	
2925	6	0.08	0.6	0	0.8	0	0.1	0	5	63.1	80	68	79.4	79.4	
2936	6	0.3	1.2	0.2	0	0	0.4	0	0	8.1	61.2	64.2	60.2	60.2	
380	6	1.4	7.4	0.1	0	0	0.4	0	0	1.3	70.3	56.8	71.8	71.8	
385	6	1.6	9.5	1.2	0	0.7	0.2	0	1.3	9.7	108.3	65.4	87.2	87.2	

Tabelle 3: Provirus-Load bei den einzelnen Katzen

Vakzine	Katze	Testinfekt.	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 6	Woche 8	Woche 10
1 Gold	2916Y	0.00	0.00	0.00	0.00	720.65	2036.35	3250.62	2150.45	617.83
	2932Y	0.00	0.00	0.00	0.00	471.70	736.38	11649.83	490.65	570.69
	0381Y	0.00	0.00	0.00	0.00	1674.35	5853.32	9818.22	1676.30	2080.08
	0384Y	0.00	0.00	0.00	0.00	114.12	796.11	9393.60	9042.02	1570.48
2 gp140	2924Y	0.00	0.00	0.00	0.00	1867.55	5395.20	6378.60	17906.93	2661.38
	2947Y	0.00	0.00	0.00	528.48	526.56	0.00	8782.45	949.53	711.82
	0379Y	0.00	0.00	0.00	0.00	3628.17	0.00	7096.10	34.97	205.24
	0393Y	0.00	0.00	0.00	0.00	344.56	1470.99	6683.63	709.22	2449.24
3 gp140 IL-12	2917Y	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2943Y	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0377Y	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0388Y	0.00	0.00	0.00	-	4555.94	4644.27	451.29	429.79	263.25
4 gp140 IL-16	2922Y	0.00	0.00	0.00	0.00	132.90	0.00	0.00	0.00	0.00
	2933Y	0.00	0.00	0.00	0.00	1169.13	-	3495.44	2205.85	1856.62
	0382Y	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2754.58	-	1747.65
	0394Y	0.00	0.00	0.00	0.00	10.17	-	1789.69	915.75	923.14
5 gp140 IL-12/IL-16	2923Y	0.00	0.00	0.00	0.00	20.04	-	2347.99	-	3134.67
	2959Y	0.00	0.00	11.65	7.24	2493.99	525.81	0.00	581.62	501.54
	0378Y	0.00	0.00	13.88	8.84	352.15	696.76	517.04	0.00	240.05
	0389Y	0.00	0.00	5.42	1.50	-	3963.26	592.80	2307.76	462.34
6 gp140 CpG	2936Y	0.00	0.00	0.00	0.00	31.33	232.77	333.68	7.98	82.91
	2925Y	0.00	0.00	0.00	0.00	19.12	51.55	101.89	-	-
	0380Y	0.00	0.00	0.00	0.00	94.31	0.00	8.57	8.24	5.49
	0385Y	0.00	0.00	0.00	0.00	61.66	89.10	337.48	96.46	174.80

-: nicht bestimmt

Literatur

- Amiel C, Darcissac E, Truong MJ, Dewulf J, Loyens M, Mouton Y, Capron A, Bahr GM; (1999)
- 5 Interleukin-16 (IL-16) inhibits human immunodeficiency virus replication in cells from infected subjects, and serum IL-16 levels drop with disease progression. J Infect Dis, 179(1):83-91
- Borette F. (1999) Experimentelle
- 10 Immunisierung von Katzen mit rekombinanten Hüllglykoproteinen des Feline Immunschwächevirus: Einfluss verschiedener Impfstoffformulierungen auf die Immunantwort und Vergleich mit einer Ganzvirusvakzine. Vet.-Diss. Zürich, .
- 15 Chu, R.S., Targoni, O.S., Krieg, A.M., Lehmann, P.V. and Harding, C.V. (1997) CpG oligodeoxynucleotides act as adjuvants that switch on T helper 1 (Th1) immunity. Journal of Experimental Medicine 186(10), 1623-31
- 20 Gardner, M.B. (1991) Simian and feline immunodeficiency viruses: animal lentivirus models for evaluation of AIDS vaccines and antiviral agents. [Review] [82 refs]. Antiviral Research 15(4), 267-86.
- Gunzburg WH, Salmons B, (1995) Virus vector
- 25 design in gene therapy. Mol Med Today 1(9):410-7)
- Hofmann-Lehmann, R., Holznagel, E., Aubert, A., Bauer-Pham, K. and Lutz, H. (1995) FIV vaccine studies. II. Clinical findings, hematological changes and kinetics of blood lymphocyte subsets. Veterinary
- 30 Immunology & Immunopathology 46(1-2), 115-25.
- Huisman, W., Karlas, J.A., Siebelink, K.H., Huisman, R.C., de Ronde, A., Francis, M.J., Rimmelzwaan, G.F. and Osterhaus, A.D. (1998) Feline immunodeficiency virus subunit vaccines that induce virus neutralising
- 35 antibodies but no protection against challenge infection. Vaccine 16(2-3), 181-7.

Idziorek T, Khalife J, Billaut-Mulot O,
Hermann E, Aumercier M, Mouton Y, Capron A, Bahr GM
(1998) Recombinant human IL-16 inhibits HIV-1 replication
and protects against activation-induced cell death (AICD)
5 Clin Exp Immunol;112(1):84-91

Jarrett, O., Yamamoto, J.K. and Neil, J.C.
(1990) Feline immunodeficiency virus as a model for AIDS
vaccination. [Review] [15 refs]. Aids 4(Suppl 1), S163-5.

Krieg AM, Yi AK, Matson S, Waldschmidt TJ,
10 Bishop GA, Teasdale R, Koretzky GA, Klinman DM (1995) CpG
motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation
Nature 6;374(6522):546-9.

Leutenegger, C.M., Hofmann-Lehmann, R.,
Holznagel, E., Cuisinier, A.M., Wolfensberger, C.,
15 Duquesne, V., Cronier, J., Allenspach, K., Aubert, A.,
Ossent, P. and Lutz, H. (1998) Partial protection by
vaccination with recombinant feline immunodeficiency
virus surface glycoproteins. AIDS Research & Human
Retroviruses 14(3), 275-83.

20 Lipford, G.B., Bauer, M., Blank, C., Reiter,
R., Wagner, H. and Heeg, K. (1997) CpG-containing
synthetic oligonucleotides promote B and cytotoxic T cell
responses to protein antigen: a new class of vaccine
adjuvants. European Journal of Immunology 27(9), 2340-4.

25 Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R., Bauer-Pham,
K., Holznagel, E., Tozzini, F., Bendinelli, M., Reubel,
G., Aubert, A., Davis, D., Cox, D. and et al. (1995) FIV
vaccine studies. I. Immune response to recombinant FIV
env gene products and outcome after challenge infection.
30 Veterinary Immunology & Immunopathology 46(1-2), 103-13.

Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R., Leutenegger,
C., Allenspach, K., Cuisinier, A.M., Cronier, J.,
Duquesne, V. and Aubert, A. (1996) Vaccination of cats
with recombinant envelope glycoprotein of feline
35 immunodeficiency virus: decreased viral load after
challenge infection. [Review] [17 refs]. AIDS Research &
Human Retroviruses 12(5), 431-3.

(Mackewicz CE, Barker E, Levy JA, (1996) Role of beta-chemokines in suppressing HIV replication. Science, 22;274(5291):1393-5

5 Morikawa, S., Lutz, H., Aubert, A. and Bishop, D.H. (1991) Identification of conserved and variable regions in the envelope glycoprotein sequences of two feline immunodeficiency viruses isolated in Zurich, Switzerland. Virus Research 21(1), 53-63.

10 Osterhaus, A.D., Tijhaar, E., Huisman, R.C., Huisman, W., Darby, I.H., Francis, M.J., Rimmelzwaan, G.F. and Siebelink, K.H. (1996) Accelerated viremia in cats vaccinated with recombinant vaccinia virus expressing envelope glycoprotein of feline immunodeficiency virus. AIDS Research & Human
15 Retroviruses 12(5), 437-41.

Pedersen, N.C., Ho, E.W., Brown, M.L. and Yamamoto, J.K. (1987) Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. Science 235(4790), 790-3.

20 Richardson, J., Moraillon, A., Baud, S., Cuisinier, A.M., Sonigo, P. and Pancino, G. (1997) Enhancement of feline immunodeficiency virus (FIV) infection after DNA vaccination with the FIV envelope. Journal of Virology 71(12), 9640-9.

25 Richardson, J., Moraillon, A., Crespeau, F., Baud, S., Sonigo, P. and Pancino, G. (1998) Delayed infection after immunization with a peptide from the transmembrane glycoprotein of the feline immunodeficiency virus. Journal of Virology 72(3), 2406-15.

30 Romagnani, S., Maggi, E. and Del Prete, G. (1994) An alternative view of the Th1/Th2 switch hypothesis in HIV infection. AIDS Research & Human Retroviruses 10(5), iii-ix.

35 Tonelli, Q.J. (1991) Enzyme-linked immunosorbent assay methods for detection of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus.

[Review] [7 refs]. Journal of the American Veterinary Medical Association 199(10), 1336-9.

Torten, M., Franchini, M., Barlough, J.E., George, J.W., Mozes, E., Lutz, H. and Pedersen, N.C.

- 5 (1991) Progressive immune dysfunction in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. Journal of Virology 65(5), 2225-30.

- 10 Ulmer JB, Donnelly JJ, Parker SE, Rhodes GH, Felgner PL, Dwarki VJ, Gromkowski SH, Deck RR, De Witt CM, Friedman A et al. (1993) Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein. Science 259: 1745-1749).

- 15 Yamamoto, J.K., Hohdatsu, T., Olmsted, R.A., Pu, R., Louie, H., Zochlinski, H.A., Acevedo, V., Johnson, H.M., Soulds, G.A. and Gardner, M.B. (1993) Experimental vaccine protection against homologous and heterologous strains of feline immunodeficiency virus. Journal of Virology 67(1), 601-5.

- 20 Yamamoto, J.K., Okuda, T., Ackley, C.D., Louie, H., Pembroke, E., Zochlinski, H., Munn, R.J. and Gardner, M.B. (1991) Experimental vaccine protection against feline immunodeficiency virus. AIDS Research & Human Retroviruses 7(11), 911-22.

- 25 Zhou P, Goldstein S, Devadas K, Tewari D, Notkins AL, (1997) Human CD4+ cells transfected with IL-16 cDNA are resistant to HIV-1 infection: inhibition of mRNA expression. Nat Med 3(6):659-64.

Ansprüche

1. Vakzine zur Schutzimpfung oder Therapie einer Lentiviren-Infektion, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine immunisierende Polynukleotidsequenz enthält, die mindestens ein Teil des Gens eines Proteins, insbesondere des Hüllproteins (env-Gen), des entsprechenden Lentivirus, unter der Kontrolle eines in dem entsprechenden Tier operablen eukaryonten Promoters enthält oder daraus besteht.

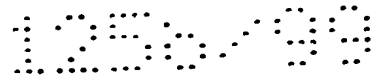
2. Vakzine gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Lentivirus ein Lentivirus eines Tiers der Gattung der Feliden, insbesondere einer Hauskatze ist.

3. Vakzine gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Lentivirus das feline Immunschwäche-Virus (FIV) ist.

4. Vakzine gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die immunisierende Polynukleotidsequenz eine kodierende Sequenz enthält, welche die extraviral oder extrazellulär gelegene Domäne des env-Genprodukts oder einen Teil davon sowie mindestens zwanzig Aminosäuren des Transmembrananteils des env-Genprodukts enthält oder daraus besteht.

5. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich mindestens einen immunisierenden Teil eines Innenproteins des Lentivirus, beispielsweise des gag-Gens enthält.

6. Vakzine gemaess einem der Ansprueche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die immunisierende Polynukleotidsequenz die kodierende Sequenz (SEQ ID NO. 4) der unter SEQ ID NO 1 angegebenen Plasmidsequenz oder eine mit der kodierenden Sequenz (SEQ ID NO 4) der unter SEQ ID NO 1 angegebenen Plasmidsequenz zu 85 % identische Sequenz, oder eine kodierende Sequenz, die ohne die Entartung des genetischen Codes mit der kodierenden



Sequenz der unter SEQ ID NO 1 angegebenen Sequenz zu mindestens 85 % identisch ist, enthält.

7. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine Hilfs-
5 Polynukleotidsequenz enthält, welche die für IL-12 codierenden Sequenzen unter der Kontrolle eines oder mehrerer im entsprechenden Tier operablen eukaryonten Promoter enthält.

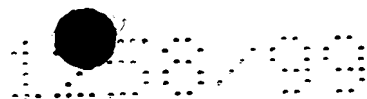
8. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine
10 Polynukleotidsequenz enthält, welche die für IL-16 codierende Sequenz unter der Kontrolle eines im entsprechenden Tier operablen eukaryonten Promoters enthält.

9. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine Hilfs-
15 Polynukleotidsequenz enthält, welche die für IL-12 und IL-16 codierenden Sequenzen unter der Kontrolle eines oder mehrerer im entsprechenden Tier operablen eukaryonten Promoter enthält.
20

10. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 7 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Hilfs-
Polynukleotidsequenz eine Sequenz enthält, die für beide Untereinheiten des feline IL-12 und/oder für das feline
25 IL-16 codiert und dass diese Sequenzen unter der Kontrolle eines in Katzen operablen eukaryoten Promoters sind.

11. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine Hilfs-
30 Polynukleotidsequenz enthält, welche mindestens eine Sequenz der Basenfolge $N^1N^2CGN^3N^4$ aufweist, wobei N^1N^2 ein Element aus der Gruppe GT, GG, GA, AT oder AA und N^3N^4 ein Element aus der Gruppe CT oder TT ist.

12. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die immunisierenden
35 Polynukleotidsequenzen und oder die Hilfs-
Polynukleotidsequenzen als Expressionskonstrukte



vorliegen, die aus kovalent geschlossenen linearen Desoxyribonukleinsäuremolekülen bestehen, welche einen linearen Doppelstrangbereich aufweisen und welche doppelstrangbildenden Einzelstränge durch kurze
5 einzelsträngige Schlaufen aus Desoxyribonukleinsäurenukleotiden verknüpft sind, und welche Doppelstrangbildenden Einzelstränge nur aus der kodierenden Sequenz unter Kontrolle eines im zu impfenden Tier operablen Promotors und einer Terminatorsequenz
10 besteht.

13. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Hilfs-Polynukleotidsequenz eine kodierende Sequenz gemäss SEQ ID NO 8 (IL-12 p40), eine kodierende Sequenz gemäss SEQ
15 ID NO 9 (IL-12 p35), eine kodierende Sequenz SEQ ID NO 10 (IL-16), SEQ ID NO 5 (CpG) oder SEQ ID NO 6 (CpG) oder eine zu einer dieser Sequenzen komplementäre Sequenz enthält.

14. Vakzine gemäss einem der Ansprüche 1 bis
20 13 zur Impfung oder Therapie einer Lentivirusinfektion bei Tieren, dadurch gekennzeichnet, dass eine immunisierende Polynukleotidsequenz und gegebenenfalls eine Hilfs-Polynukleotidsequenz gemäss einem der Ansprüche 1 bis 13 auf einem geeigneten massereichen und
25 inerten Trägermaterial aufgebracht vorliegt, derart, dass sie auf die Haut des Tieres beschleunigt, in die Zellen der Haut des Tieres eindringen und dort exprimiert werden kann.

15. Vakzine gemäss Anspruch 14, dadurch
30 gekennzeichnet, dass das Tier zur Gattung der Feliden gehört und vorzugsweise eine Hauskatze ist.

16. Vakzine gemäss Anspruch 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägermaterial Gold ist.

17. Vakzine zur Schutzimpfung oder Therapie
35 einer Lentivirus-Infektion dadurch gekennzeichnet, dass sie ein immunisierendes Protein oder einen immunisierenden Teil eines Proteins, insbesondere des

Hüllproteins des entsprechenden Lentivirus zusammen mit IL-12 und/oder IL-16 je als Protein enthält.

18. Verfahren zur Herstellung eines immunisierenden Lentivirus-Protein oder von
- 5 immunisierenden Teilen davon, insbesondere von Proteinen oder Teilen von Proteinen des FIV, dadurch gekennzeichnet, dass eine entsprechende Nukleotidsequenz unter der Kontrolle geeigneter Expressionssequenzen in einer Wirtszelle exprimiert und daraus isoliert wird.

Zusammenfassung

Es wird ein Impfstoff beschrieben, welcher einen Schutz gegen Erkrankung infolge einer

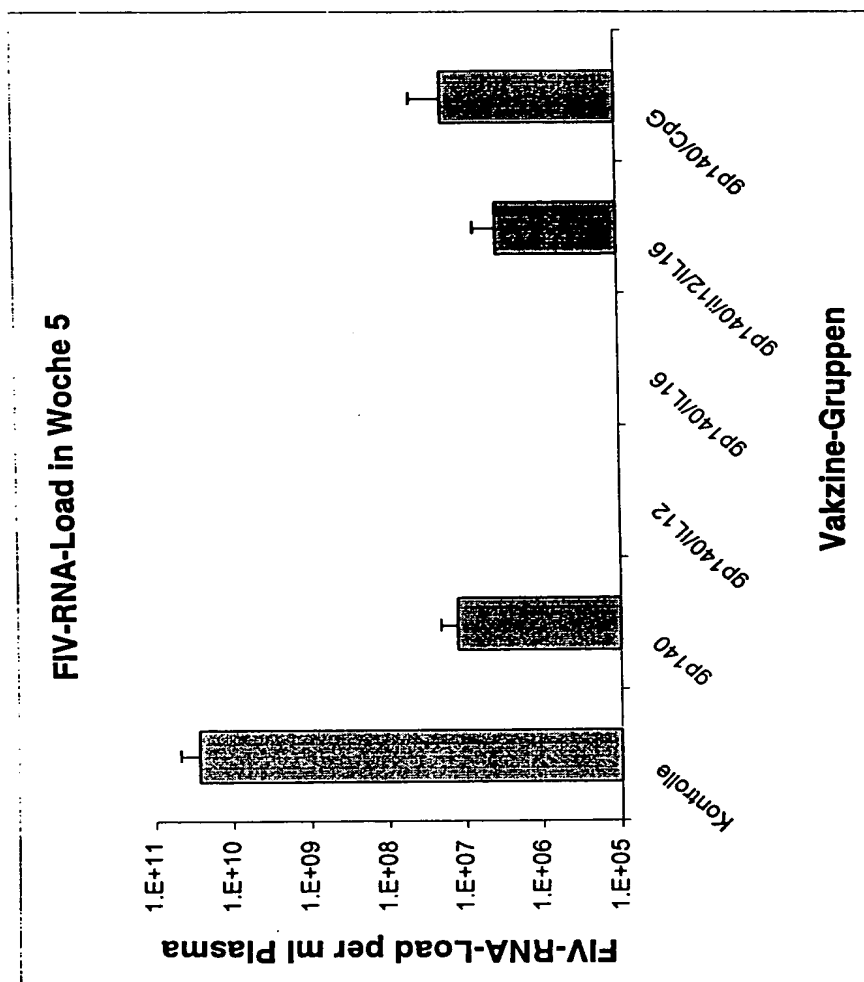
5 Lentivirusinfektion, insbesondere eine Infektion mit dem feline Immunschwäche-Virus (FIV), zu induzieren vermag und durch den die Impfung so gestaltet werden kann, dass geimpfte Tiere durch ihren Antikörperstatus von

10 erkrankten oder infizierten Tieren unterschieden werden können. Ein solcher Impfstoff enthält eine DNA-Sequenz, welche das Hüllglykoprotein sowie vorzugsweise einen Teil jenes Gens enthält, welches für das Transmembranprotein kodiert. Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist, dass der Impfmischung geeignete Adjuvantien beigegeben werden, die

15 eine zytotoxische Immunantwort hervorrufen, beispielsweise Zytokine der TH1-Antwort, Zytokin-kodierende DNA-Expressionskonstrukte oder immunstimulatorische DNA Sequenzen.

125/99

Figur 1



Figur 2: SEQUENZPROTOKOLL

SEQ ID NO 1 (FIV gp140):

5

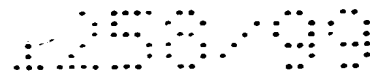
pMOLFIVgp140.

	TCTTCCGCTT	CCTCGCTCAC	TGACTCGCTG	CGCTCGGTCTG	TTCGGCTGCG
	GCGAGCGGTA	TCAGCTCACT	CAAAGGCGGT	AATACGGTTA	TCCACAGAAT
10	CAGGGGATAA	CGCAGGAAAG	AACATGTGAG	CAAAAGGCCA	GCAAAAGGCC
	AGGAACCGTA	AAAAGGCCGC	GTTGCTGGCG	TTTTTCCATA	GGCTCCGCCC
	CCCTGACGAG	CATCACAAAA	ATCGACGCTC	AAGTCAGAGG	TGGCGAAACC
	CGACAGGACT	ATAAAGATAC	CAGGCGTTTC	CCCCTGGAAG	CTCCCTCGTG
	CGCTCTCCTG	TTCCGACCCT	GCCGCTTACC	GGATACCTGT	CCGCCTTTCT
15	CCCTTCGGGA	AGCGTGGCGC	TTTCTCATAG	CTCACGCTGT	AGGTATCTCA
	GTTTCGGTGTA	GGTCGTTTCG	TCCAAGCTGG	GCTGTGTGCA	CGAACCCCCC
	GTTTCAGCCCG	ACCGCTGCGC	CTTATCCGGT	AACTATCGTC	TTGAGTCCAA
	CCCGGTAAGA	CACGACTTAT	CGCCACTGGC	AGCAGCCACT	GGTAACAGGA
	TTAGCAGAGC	GAGGTATGTA	GGCGGTGCTA	CAGAGTTCTT	GAAGTGGTGG
20	CCTAACTACG	GCTACACTAG	AAGGACAGTA	TTTGGTATCT	GCGCTCTGCT
	GAAGCCAGTT	ACCTTCGGAA	AAAGAGTTGG	TAGCTCTTGA	TCCGGCAAAC
	AAACCACCGC	TGGTAGCGGT	GGTTTTTTTT	TTTGCAAGCA	GCAGATTACG
	CGCAGAAAAA	AAGGATCTCA	AGAAGATCCT	TTGATCTTTT	CTACGGGGTC
	TGACGCTCAG	TGGAACGAAA	ACTCACGTTA	AGGGATTTTG	GTCATGAGAT
25	TATCAAAAAG	GATCTTCACC	TAGATCCTTT	TAAATTAAAA	ATGAAGTTTT
	AAATCAATCT	AAAGTATATA	TGAGTAAACT	TGGTCTGACA	GTTACCAATG
	CTTAATCAGT	GAGGCACCTA	TCTCAGCGAT	CTGTCTATTT	CGTTCATCCA
	TAGTTGCCTG	ACTCCCCGTC	GTGTAGATAA	CTACGATACG	GGAGGGCTTA
	CCATCTGGCC	CCAGTGCTGC	AATGATACCG	CGAGACCCAC	GCTCACCGGC
30	TCCAGATTTA	TCAGCAATAA	ACCAGCCAGC	CGGAAGGGCC	GAGCGCAGAA
	GTGGTCCTGC	AACTTTATCC	GCCTCCATCC	AGTCTATTAA	TTGTTGCCGG
	GAAGCTAGAG	TAAGTAGTTC	GCCAGTTAAT	AGTTTGCGCA	ACGTTGTTGC
	CATTGCTACA	GGCATCGTGG	TGTCACGCTC	GTCGTTGGT	ATGGCTTCAT
	TCAGCTCCGG	TTCCCAACGA	TCAAGGCGAG	TTACATGATC	CCCCATGTTG
35	TGCAAAAAG	CGGTTAGCTC	CTTCGGTCCT	CCGATCGTTG	TCAGAAGTAA
	GTTGGCCGCA	GTGTTATCAC	TCATGGTTAT	GGCAGCACTG	CATAATTCTC
	TTACTGTCAT	GCCATCCGTA	AGATGCTTTT	CTGTGACTGG	TGAGTACTCA
	ACCAAGTCAT	TCTGAGAATA	GTGTATGCGG	CGACCGAGTT	GCTCTTGCCC
	GGCGTCAATA	CGGGATAATA	CCGCGCCACA	TAGCAGAACT	TTAAAAGTGC
40	TCATCATTGG	AAAACGTTCT	TCGGGGCGAA	AACTCTCAAG	GATCTTACCG
	CTGTTGAGAT	CCAGTTCGAT	GTAACCCACT	CGTGCACCCA	ACTGATCTTC
	AGCATCTTTT	ACTTTCACCA	GCGTTTCTGG	GTGAGCAAAA	ACAGGAAGGC
	AAAATGCCGC	AAAAAAGGGA	ATAAGGGCGA	CACGGAAATG	TTGAATACTC
	ATACTCTTCC	TTTTTCAATA	TTATTGAAGC	ATTTATCAGG	GTTATTGTCT
45	CATGAGCGGA	TACATATTTG	AATGTATTTA	GAAAAATAAA	CAAATAGGGG
	TTCCGCGCAC	ATTTCCCCGA	AAAGTGCCAC	CTGACGTCTA	AGAAACCATT
	ATTATCATGA	CATTAAACCTA	TAAAAATAGG	CGTATCACGA	GGCCCTTTCTG
	TCTCGCGCGT	TTCGGTGATG	ACGGTGAAAA	CCTCTGACAC	ATGCAGCTCC

	CGGAGACGGT	CACAGCTTGT	CTGTAAGCGG	ATGCCGGGAG	CAGACAAGCC
	CGTCAGGGCG	CGTCAGCGGG	TGTTGGCGGG	TGTCGGGGCT	GGCTTAACTA
	TGCGGCATCA	GAGCAGATTG	TACTGAGAGT	GCACCATATG	CGGTGTGAAA
	TACCGCACAG	ATGCGTAAGG	AGAAAATACC	GCATCAGGCG	CCATTCGCCA
5	TTCAGGCTGC	GCAACTGTTG	GGAAGGGCGA	TCGGTGCGGG	CCTCTTCGCT
	ATTACGCCAG	CTGGCGAAAG	GGGGATGTGC	TGCAAGGCGA	TTAAGTTGGG
	TAACGCCAGG	GTTTTCCCG	TCACGACGTT	GTAAAACGAC	GGCCAGTGCC
	AAGCTTGCGA	ATTCTGGATC	CGCTAGCTTA	ACCGTATTAC	CGCCATGCAT
	TAGTTATTAA	TAGTAATCAA	TTACGGGGTC	ATTAGTTCAT	AGCCCATATA
10	TGGAGTTCCG	CGTTACATAA	CTTACGGTAA	ATGGCCCCGCC	TGGCTGACCG
	CCCAACGACC	CCCGCCCAT	GACGTCAATA	ATGACGTATG	TTCCCATAGT
	AACGCCAATA	GGGACTTTCC	ATTGACGTCA	ATGGGTGGAG	TATTTACGGT
	AAACTGCCCC	CTTGGCAGTA	CATCAAGTGT	ATCATATGCC	AAGTACGCCC
	CCTATTGACG	TCAATGACGG	TAAATGGCCC	GCCTGGCATT	ATGCCCAGTA
15	CATGACCTTA	TGGGACTTTC	CTACTTGGCA	GTACATCTAC	GTATTAGTCA
	TCGCTATTAC	CATGGTGATG	CGGTTTTGGC	AGTACATCAA	TGGGCGTGGA
	TAGCGGTTTG	ACTCACGGGG	ATTTCCAAGT	CTCCACCCCA	TTGACGTCAA
	TGGGAGTTTG	TTTTGGCACC	AAAATCAACG	GGACTTTCCA	AAATGTCGTA
	ACAACCTCCG	CCCATTGACG	CAAATGGGCG	GTAGGCGTGT	ACGGTGGGAG
20	GTCTATATAA	GCAGAGCTGG	TTTAGTGAAC	CGTCAGATGG	TACCATGGCA
	GAAGGATTTG	CAGCCAATAG	ACAATGGATA	GGGCCAGAAG	AAGCTGAAGG
	GTTGTTAGAT	TTTGATATAG	CAACACAAAT	GAATGAAGAA	GGGCCACTAA
	ATCCAGGAAT	AAACCCATTT	AGGGTGCCCTG	GAATAGCAGA	AATAGAAAAG
	CGAGACTATT	GCAAAATATT	ACAACCCAAA	TTACAAGATC	TAAAGAATGA
25	AATTCAAGAG	GTAAAACTGG	AAGAAGGAAA	TGCAGGTAAG	TTTAGAAGAG
	CAAGATTTTT	AAGATATTCT	GATGAAAATA	TATTATCCCT	GATTTCATTTG
	TTCATAGGGT	ATTGTACATA	TTTATGCAGA	AAAAATGAGT	TAGGATCTTT
	ACGACATGAC	ATAGATATAG	ACGAACATCA	AGAAGAGTAT	TATACTAGTA
	TAGAGAAAGG	TACAACTGCC	AATATAAAAT	ATGGTAGACG	ATGTCTCATA
30	GGAACAGCGG	CTTTGTACCT	GCTTTTCATA	GGAATAATAA	TATATACACA
	AACAACCAAG	GCTCAGGTAG	TATGGGAGACT	TCCACCATTA	GTAGTCCCCG
	TGAAAGAATC	AGAGATAATT	TTTTGGGATT	GTTGGGCACC	AGAGGAACCC
	GCCTGTCAGG	ACTTTCCTTG	GGCAATGATA	CATCTAAAAG	CTAGTACAAA
	TATAAGTATA	CAAGAGGGAC	CTACCCTGGG	GAATTGGGCT	AGAGAAATAT
35	GGGGAACATT	ATTCAAAAAG	GCTACCAGAC	AATGTAGAAG	AGGTAGAGTA
	TGGAGAAGAT	GGAATGAGAC	TATAACAGGA	CCATCAGGAT	GTGCTAATAA
	CACATGTTAT	AATATCTCAG	TAATAGTACC	TGATTATCAA	TGTTATTTAG
	ACAGAGTAGA	TACTTGGTTA	CAAGGGAAAG	TAAATATATC	ATTATGTCTA
	ACAGGAGGAA	AAATGTTGTA	TAATAAATAT	ACAAAACAAT	TGAGCTATTG
40	TACAGATCCA	TTACAAATCC	CACTGATCAA	TTATACGTTT	GGACCTAATC
	AAACATGTAA	GTGGAACACT	TCACAGATTC	AAGACTCTGA	GATACCAAAA
	TGTGGATGGT	GGAATCAAGC	AGCCTATTAT	AACAGTTGTA	GATGGGAAAG
	CACTGATGTA	AAGTTTCATT	GTCAAAGAAC	ACAGAGTCTG	CCTGGAACAT
	GGCTTAGAAC	AATCTCATCA	TGGAGGCCAA	AGAATAGATG	GGAATGGAGG
45	CCAGATTTTG	AAAGTGAAAA	AGTGAAAGTA	TCTCTACAGT	GTAATAGCAC
	AAGCAACCTA	ACTTTGTCAA	TGAGAAGTTC	AGGAGATTAT	GGAGAGGTAA
	CGGGAGCATG	GATAGAATTT	GGATGTCATA	GGAAAAAATC	AAAACCTCAT
	TCTGAAGCAA	GGTTTAGAAT	CAGATGTAGA	TGGGATAAAG	GGGATAATAC
	CTCACTCAT	GATACATGTG	GAAAACTCA	AAATGTTTTA	GGTGCAAATC
50	CTGTAGATTG	CACCATGTAT	GCAAATAGAA	TGTATAATTG	TTCTTTACAA

Unveränderliches Ex
Ex mplair invariabl
Esemplar immutabil

4



	AATGGGTTTA	CTATGAAGAT	AGATGACCTT	GTTATGCATT	TCAATATGAC
	GAAAGCTGTA	GAAATGTATA	ACATTGCTGG	AAATTGGTCT	TGTACATCTG
	ACTTGCCACC	AACATGGGGG	TATATGAATT	GTAATTGTAC	AAATAGTAGT
	AGTACAACATA	GATGTTCTGG	TAATAAAATG	GCATGTCCTG	GAGATAAAGG
5	TATCTTAAGA	AATTGGTATA	ACCCAGTAGC	AGGATTAAGA	CAATCCCTAG
	AAAAGTATCA	AGTAGTAAAA	CAACCAGATT	ACTTAGTGGT	GCCAGGGGAA
	GTCATGGAAT	ATAAACCTAG	AAGGAAAAGA	GCAGCTATTC	ATGTTATGTT
	AGCTCTTGCA	ACAGTATTAT	CTATGGCCGG	GGCAGGGACG	GGGGCTACTG
	CTATAGGGAT	GGTAACGCAA	TATCACCAAG	TTCTGGCAAC	TCATCAAGAA
10	GCTATAGAAA	AGGTGACTGA	AGCCTTAAAG	ATAAACAACT	TAAGATTAGT
	TACATTAGAG	CATCAAGTAC	TAGTAATAGG	ATTAAAAGTA	GAAGCTATGG
	AAAAATTTTT	ATATACAGCT	TTCGCTATGC	AAGAATTAGG	ATGTAATCAA
	AATCAATTCT	TCTGTAAAGT	CCCTCCTGTG	TTGTGGGAAA	GATATAATAT
	GACTATAAAT	CAAACAATAT	GGAATCATGG	AAATATAACT	TTGGGGGAAT
15	GGTATAACCA	AACAAAAGAT	TTACAACAAA	AGTTCTATGA	AATAATAATG
	GACATAGAAC	AAAATAATGT	ACAAGGAAAA	AAAGGGTTAC	AACAATTACA
	AAAATGGGAA	GATTGGGTTAG	GATGGATAGG	AAATATTCCA	AAATATTTAT
	AAGAGCTCAT	AATCAGCCAT	ACCACATTTG	TAGAGGTTTT	ACTTGCTTTA
	AAAAACCTCC	CACACCTCCC	CCTGAACCTG	AAACATAAAA	TGAATGCAAT
20	TCTTGTTGTT	AACTTGTTTA	TTGCAGCTTA	TAATGGTTAC	AAATAAAGCA
	ATAGCATCAC	AAATTTTACA	AATAAAGCAT	TTTTTTTCACT	GCATTCTAGT
	TGTGGTTTGT	CCAAACTCAT	CAATGTATCT	TAACGCGAAT	TCGTAATCAT
	GGTCATAGCT	GTTTCCTGTG	TGAAATTGTT	ATCCGCTCAC	AATTCCACAC
	AACATACGAG	CCGGAAGCAT	AAAGTGTAAG	GCCTGGGGTG	CCTAATGAGT
25	GAGCTAACTC	ACATTAATTG	CGTTGCGCTC	ACTGCCCGCT	TTCCAGTCGG
	GAAACCTGTC	GTGCCAGCTG	CATTAATGAA	TCGGCCAACG	CGCGGGGAGA
	GGCGGTTTGC	GTATTGGGCG	C		

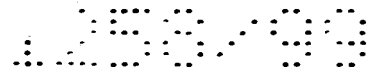
30

SEQ ID NO 2 (IL-12p40):

	TCTTCCGCTT	CCTCGCTCAC	TGACTCGCTG	CGCTCGGTCTG	TTCGGCTGCG
	GCGAGCGGTA	TCAGCTCACT	CAAAGGCGGT	AATACGGTTA	TCCACAGAAT
35	CAGGGGATAA	CGCAGGAAAG	AACATGTGAG	CAAAAGGCCA	GCAAAAGGCC
	AGGAACCGTA	AAAAGGCCGC	GTTGCTGGCG	TTTTTCCATA	GGCTCCGCCC
	CCCTGACGAG	CATCACAAAA	ATCGACGCTC	AAGTCAGAGG	TGGCGAAACC
	CGACAGGACT	ATAAAGATAC	CAGGCGTTTC	CCCCTGGAAG	CTCCCTCGTG
	CGCTCTCCTG	TTCCGACCCT	GCCGCTTACC	GGATACCTGT	CCGCCTTTCT
40	CCCTTCGGGA	AGCGTGGCGC	TTTCTCATAG	CTCACGCTGT	AGGTATCTCA
	GTTTCGGTGT	GGTCGTTTCG	TCCAAGCTGG	GCTGTGTGCA	CGAACCCCCC
	GTTTCAGCCG	ACCGCTGCGC	CTTATCCGGT	AACTATCGTC	TTGAGTCCAA
	CCCGGTAAGA	CACGACTTAT	CGCCACTGGC	AGCAGCCACT	GGTAACAGGA
	TTAGCAGAGC	GAGGTATGTA	GGCGGTGCTA	CAGAGTTCTT	GAAGTGGTGG
45	CCTAACTACG	GCTACACTAG	AAGGACAGTA	TTTGGTATCT	GCGCTCTGCT
	GAAGCCAGTT	ACCTTCGGAA	AAAGAGTTGG	TAGCTCTTGA	TCCGGCAAAC
	AAACCACCGC	TGGTAGCGGT	GGTTTTTTTT	TTTGCAAGCA	GCAGATTACG
	CGCAGAAAAA	AAGGATCTCA	AGAAGATCCT	TTGATCTTTT	CTACGGGGTC
	TGACGCTCAG	TGGAACGAAA	ACTCACGTTA	AGGGATTTTG	GTCATGAGAT



	TATCAAAAAG	GATCTTCACC	TAGATCCTTT	TAAATTAAAA	ATGAAGTTTT
	AAATCAATCT	AAAGTATATA	TGAGTAAACT	TGGTCTGACA	GTTACCAATG
	CTTAATCAGT	GAGGCACCTA	TCTCAGCGAT	CTGTCTATTT	CGTTCATCCA
	TAGTTGCCTG	ACTCCCCGTC	GTGTAGATAA	CTACGATACG	GGAGGGCTTA
5	CCATCTGGCC	CCAGTGCTGC	AATGATACCG	CGAGACCCAC	GCTCACCGGC
	TCCAGATTTA	TCAGCAATAA	ACCAGCCAGC	CGGAAGGGCC	GAGCGCAGAA
	GTGGTCCTGC	AACTTTATCC	GCCTCCATCC	AGTCTATTAA	TTGTTGCCGG
	GAAGCTAGAG	TAAGTAGTTC	GCCAGTTAAT	AGTTTGCGCA	ACGTTGTTGC
	CATTGCTACA	GGCATCGTGG	TGTCACGCTC	GTCGTTTGGT	ATGGCTTCAT
10	TCAGCTCCGG	TTCCCAACGA	TCAAGGCGAG	TTACATGATC	CCCCATGTTG
	TGCAAAAAAG	CGGTTAGCTC	CTTCGGTCCT	CCGATCGTTG	TCAGAAGTAA
	GTTGGCCGCA	GTGTTATCAC	TCATGGTTAT	GGCAGCACTG	CATAATTCTC
	TTACTGTCAT	GCCATCCGTA	AGATGCTTTT	CTGTGACTGG	TGAGTACTCA
	ACCAAGTCAT	TCTGAGAATA	GTGTATGCGG	CGACCGAGTT	GCTCTTGCCC
15	GGCGTCAATA	CGGGATAATA	CCGCGCCACA	TAGCAGAACT	TTAAAAGTGC
	TCATCATTGG	AAAACGTTCT	TCGGGGCGAA	AACTCTCAAG	GATCTTACCG
	CTGTTGAGAT	CCAGTTCGAT	GTAACCCACT	CGTGCACCCA	ACTGATCTTC
	AGCATCTTTT	ACTTTCACCA	GCGTTTCTGG	GTGAGCAAAA	ACAGGAAGGC
	AAAATGCCGC	AAAAAAGGGA	ATAAGGGCGA	CACGGAAATG	TTGAATACTC
20	ATACTCTTCC	TTTTTCAATA	TTATTGAAGC	ATTTATCAGG	GTTATTGTCT
	CATGAGCGGA	TACATATTTG	AATGTATTTA	GAAAAATAAA	CAAATAGGGG
	TTCCGCGCAC	ATTTCCCCGA	AAAGTGCCAC	CTGACGTCTA	AGAAACCATT
	ATTATCATGA	CATTAACCTA	TAAAAATAGG	CGTATCACGA	GGCCCTTTTCG
	TCTCGCGCGT	TTCGGTGATG	ACGGTGAAAA	CCTCTGACAC	ATGCAGCTCC
25	CGGAGACGGT	CACAGCTTGT	CTGTAAGCGG	ATGCCGGGAG	CAGACAAGCC
	CGTCAGGGCG	CGTCAGCGGG	TGTTGGCGGG	TGTCGGGGCT	GGCTTAACTA
	TGCGGCATCA	GAGCAGATTG	TACTGAGAGT	GCACCATATG	CGGTGTGAAA
	TACCGCACAG	ATGCGTAAGG	AGAAAATACC	GCATCAGGCG	CCATTCGCCA
	TTCAGGCTGC	GCAACTGTTG	GGAAGGGCGA	TCGGTGCGGG	CCTCTTCGCT
30	ATTACGCCAG	CTGGCGAAAG	GGGGATGTGC	TGCAAGGCGA	TTAAGTTGGG
	TAACGCCCAGG	GTTTTCCAG	TCACGACGTT	GTAAAACGAC	GGCCAGTGCC
	AAGCTTGGTC	TCCCCCTGGA	TCCGCTAGCT	TAACCGTATT	ACCGCCATGC
	ATTAGTTATT	AATAGTAATC	AATTACGGGG	TCATTAGTTC	ATAGCCCATATA
	TATGGAGTTC	CGCGTTACAT	AACTTACGGT	AAATGGCCCG	CCTGGCTGAC
35	CGCCCAACGA	CCCCCGCCCA	TTGACGTCAA	TAATGACGTA	TGTTCCCATATA
	GTAACGCCAA	TAGGGACTTT	CCATTGACGT	CAATGGGTGG	AGTATTTACG
	GTAAACTGCC	CACTTGGCAG	TACATCAAGT	GTATCATATG	CCAAGTACGC
	CCCCTATTGA	CGTCAATGAC	GGTAAATGGC	CCGCCTGGCA	TTATGCCCAG
	TACATGACCT	TATGGGACTT	TCCTACTTGG	CAGTACATCT	ACGTATTAGT
40	CATCGCTATT	ACCATGGTGA	TGCGGTTTTG	GCAGTACATC	AATGGGCGTG
	GATAGCGGTT	TGACTCACGG	GGATTTCCAA	GTCTCCACCC	CATTGACGTC
	AATGGGAGTT	TGTTTTGGCA	CCAAAATCAA	CGGGACTTTC	CAAAATGTCTG
	TAACAACCTCC	GCCCCATTGA	CGCAAATGGG	CGGTAGGCGT	GTACGGTGGG
	AGGTCTATAT	AAGCAGAGCT	GGTTTAGTGA	ACCGTCAGAT	GGTACCATGC
45	ATCCTCAGCA	GTTGGTCATC	GCCTGGTTTT	CCCTGGTTTT	GCTGGCACCT
	CCCCTCATGG	CCATATGGGA	ACTGGAGAAA	AACGTTTATG	TTGTAGAGTT
	GGACTGGCAC	CCTGATGCCC	CCGGAGAAAT	GGTGGTCCTT	ACCTGCAATA
	CTCCTGAAGA	AGATGACATC	ACCTGGACCT	CTGACCAGAG	CAGTGAAGTC
	CTAGGCTCTG	GTAAAACTCT	GACCATCCAA	GTCAAAGAAT	TTGCAGATGC
50	TGGCCAGTAT	ACCTGTCATA	AAGGAGGCGA	GGTTCTGAGC	CATTCGTTCC



5 TCCTGATACA CAAAAAGGAA GATGGAATTT GGTCCACTGA TATCTTAAGG
GAACAGAAAG AATCCAAAAA TAAGATCTTT CTAAAATGTG AGGCAAAGAA
TTATTCTGGA CGTTTCACCT GCTGGTGGCT GACGGCAATC AGTACCGATT
TGAAATTCAC TGTCAAAGC AGCAGAGGCT CCTCTGACCC CCAAGGGGTG
10 ACTTGTGGAG CAGCGACACT CTCAGCAGAG AAGGTCAGAG TGGACAACAG
GGATTATAAG AAGTACACAG TGGAGTGTCA GGAGGGCAGT GCCTGCCCCG
CTGCCGAGGA GAGCCTACCC ATTGAAGTCG TGGTGGACGC TATTCACAAG
CTCAAGTACG AAAACTACAC CAGCAGCTTC TTCATCAGGG ACATCATCAA
ACCGGACCCA CCCAAGAACC TGCAACTGAA GCCATTAAAA AATTCTCGGC
15 ATGTGGAAGT GAGCTGGGAA TACCCTGACA CCTGGAGCAC CCCACATTCC
TACTTCTCCT TAACATTTGG CGTACAGGTC CAGGGCAAGA ACAACAGAGA
AAAGAAAGAC AGACTCTCCG TGGACAAGAC CTCAGCCAAG GTCGTGTGCC
ACAAGGATGC CAAGATCCGC GTGCAAGCCA GGGACCGCTA CTATAGCTCA
TCCTGGAGCA ACTGGGCATC CGTGTCTGTC AGTTAGGAGC TCATAATCAG
20 CCATACCACA TTTGTAGAGG TTTTACTTGC TTTAAAAAAC CTCCCACACC
TCCCCCTGAA CCTGAAACAT AAAATGAATG CAATTCTTGT TGTAACTTG
TTTATTGCAG CTTATAATGG TTACAAATAA AGCAATAGCA TCACAAATTT
CACAAATAAA GCATTTTTTT CACTGCATTC TAGTTGTGGT TTGTCCAAAC
TCATCAATGT ATCTTAACGC GAATTCAGGG GGAGACCCAA TTCGTAATCA
25 TGGTCATAGC TGTTTCCTGT GTGAAATTGT TATCCGCTCA CAATTCCACA
CAACATACGA GCCGGAAGCA TAAAGTGTA AGCCTGGGGT GCCTAATGAG
TGAGCTAACT CACATTAATT GCGTTGCGCT CACTGCCCCG TTTCCAGTCG
GGAAACCTGT CGTGCCAGCT GCATTAATGA ATCGGCCAAC GCGCGGGGAG
AGGCGGTTTG CGTATTGGGC GC

SEQ ID NO 3 (IL-12p35):

pMOLfIL-12p35 (e-, _e31-) Klon61

30 TCTTCCGCTT CCTCGCTCAC TGA CTGCTG CGCTCGGTCG TTCGGCTGCG
GCGAGCGGTA TCAGCTCACT CAAAGGCGGT AATACGGTTA TCCACAGAAT
CAGGGGATAA CGCAGGAAAG AACATGTGAG CAAAAGGCCA GCAAAGGCC
35 AGGAACCGTA AAAAGGCCGC GTTGCTGGCG TTTTCCATA GGCTCCGCCC
CCCTGACGAG CATCACAAAA ATCGACGCTC AAGTCAGAGG TGGCGAAACC
CGACAGGACT ATAAAGATAC CAGGCGTTTC CCCCTGGAAG CTCCCTCGTG
CGCTCTCCTG TTCCGACCCT GCCGCTTACC GGATACCTGT CCGCCTTTCT
CCCTTCGGGA AGCGTGGCGC TTTCTCATAG CTCACGCTGT AGGTATCTCA
40 GTTCGGTGTA GGTCGTTTCG TCCAAGCTGG GCTGTGTGCA CGAACCCCCC
GTTCAGCCCG ACCGCTGCGC CTTATCCGGT AACTATCGTC TTGAGTCCAA
CCCGGTAAGA CACGACTTAT CGCCACTGGC AGCAGCCACT GGTAACAGGA
TTAGCAGAGC GAGGTATGTA GGCGGTGCTA CAGAGTTCTT GAAGTGGTGG
CCTAACTACG GCTACACTAG AAGGACAGTA TTTGGTATCT GCGCTCTGCT
GAAGCCAGTT ACCTTCGGAA AAAGAGTTGG TAGCTCTTGA TCCGGCAAAC
45 AAACCACCGC TGGTAGCGGT GGTTTTTTTG TTTGCAAGCA GCAGATTACG
CGCAGAAAAA AAGGATCTCA AGAAGATCCT TTGATCTTTT CTACGGGGTC
TGACGCTCAG TGGAACGAAA ACTCACGTTA AGGGATTTTG GTCATGAGAT
TATCAAAAAG GATCTTCACC TAGATCCTTT TAAATTAATA ATGAAGTTTT

	AAATCAATCT	AAAGTATATA	TGAGTAAACT	TGGTCTGACA	GTTACCAATG
	CTTAATCAGT	GAGGCACCTA	TCTCAGCGAT	CTGTCTATTT	CGTTCATCCA
	TAGTTGCCTG	ACTCCCCGTC	GTGTAGATAA	CTACGATACG	GGAGGGCTTA
	CCATCTGGCC	CCAGTGCTGC	AATGATACCG	CGAGACCCAC	GCTCACCGGC
5	TCCAGATTTA	TCAGCAATAA	ACCAGCCAGC	CGGAAGGGCC	GAGCGCAGAA
	GTGGTCCTGC	AACTTTATCC	GCCTCCATCC	AGTCTATTAA	TTGTTGCCGG
	GAAGCTAGAG	TAAGTAGTTC	GCCAGTTAAT	AGTTTGCGCA	ACGTTGTTGC
	CATTGCTACA	GGCATCGTGG	TGTCACGCTC	GTCGTTTGGT	ATGGCTTCAT
	TCAGCTCCGG	TTCCCAACGA	TCAAGGCGAG	TTACATGATC	CCCCATGTTG
10	TGCAAAAAAG	CGGTTAGCTC	CTTCGGTCCT	CCGATCGTTG	TCAGAAGTAA
	GTTGGCCGCA	GTGTTATCAC	TCATGGTTAT	GGCAGCACTG	CATAATTCTC
	TTACTGTCAT	GCCATCCGTA	AGATGCTTTT	CTGTGACTGG	TGAGTACTCA
	ACCAAGTCAT	TCTGAGAATA	GTGTATGCGG	CGACCGAGTT	GCTCTTGCCC
	GGCGTCAATA	CGGGATAATA	CCGCGCCACA	TAGCAGAACT	TTAAAAGTGC
15	TCATCATTGG	AAAACGTTCT	TCGGGGCGAA	AACTCTCAAG	GATCTTACCG
	CTGTTGAGAT	CCAGTTCGAT	GTAACCCACT	CGTGCACCCA	ACTGATCTTC
	AGCATCTTTT	ACTTTCACCA	GCGTTTCTGG	GTGAGCAAAA	ACAGGAAGGC
	AAAATGCCGC	AAAAAAGGGA	ATAAGGGCGA	CACGGAAATG	TTGAATACTC
	ATACTCTTCC	TTTTTCAATA	TTATTGAAGC	ATTTATCAGG	GTTATTGTCT
20	CATGAGCGGA	TACATATTTG	AATGTATTTA	GAAAAATAAA	CAAATAGGGG
	TTCCGCGCAC	ATTTCCCCGA	AAAGTGCCAC	CTGACGTCTA	AGAAACCATT
	ATTATCATGA	CATTAACCTA	TAAAAATAGG	CGTATCACGA	GGCCCTTTCG
	TCTCGCGCGT	TTCGGTGATG	ACGGTGAAAA	CCTCTGACAC	ATGCAGCTCC
	CGGAGACGGT	CACAGCTTGT	CTGTAAGCGG	ATGCCGGGAG	CAGACAAGCC
25	CGTCAGGGCG	CGTCAGCGGG	TGTTGGCGGG	TGTCGGGGCT	GGCTTAACTA
	TGCGGCATCA	GAGCAGATTG	TACTGAGAGT	GCACCATATG	CGGTGTGAAA
	TACCGCACAG	ATGCGTAAGG	AGAAAATACC	GCATCAGGCG	CCATTCGCCA
	TTCAGGCTGC	GCAACTGTTG	GGAAGGGCGA	TCGGTGCGGG	CCTCTTCGCT
	ATTACGCCAG	CTGGCGAAAG	GGGGATGTGC	TGCAAGGCGA	TTAAGTTGGG
30	TAACGCCCAGG	GTTTTCCCAAG	TCACGACGTT	GTAAAACGAC	GGCCAGTGCC
	AAGCTTGGTC	TCCCCCTGGA	TCCGCTAGCT	TAACCGTATT	ACCGCCATGC
	ATTAGTTATT	AATAGTAATC	AATTACGGGG	TCATTAGTTC	ATAGCCCATA
	TATGGAGTTC	CGCGTTACAT	AACTTACGGT	AAATGGCCCG	CCTGGCTGAC
	CGCCCAACGA	CCCCCGCCCA	TTGACGTCAA	TAATGACGTA	TGTTCCCATA
35	GTAACGCCAA	TAGGGACTTT	CCATTGACGT	CAATGGGTGG	AGTATTTACG
	GTAAACTGCC	CACTTGGCAG	TACATCAAGT	GTATCATATG	CCAAGTACGC
	CCCCTATTGA	CGTCAATGAC	GGTAAATGGC	CCGCCTGGCA	TTATGCCCCAG
	TACATGACCT	TATGGGACTT	TCCTACTTGG	CAGTACATCT	ACGTATTAGT
	CATCGCTATT	ACCATGGTGA	TGCGGTTTTG	GCAGTACATC	AATGGGCGTG
40	GATAGCGGTT	TGACTCACGG	GGATTTCCAA	GTCTCCACCC	CATTGACGTC
	AATGGGAGTT	TGTTTTGGCA	CCAAAATCAA	CGGGACTTTC	CAAAATGTCG
	TAACAACCTCC	GCCCCATTGA	CGCAAATGGG	CGGTAGGCGT	GTACGGTGGG
	AGGTCTATAT	AAGCAGAGCT	GGTTTAGTGA	ACCGTCAGAT	GGTACCATGT
	GCCCCGCCGCG	TGGCCTCCTC	CTTGTAACCA	TCCTGGTCCT	GTTAAACCAC
45	CTGGACCACC	TCAGTTTGGC	CAGGAACCTC	CCCACACCCA	CACCAAGCCC
	AGGAATGTTC	CAGTGCCTCA	ACCACTCCCA	AACCCTGCTG	CGAGCCATCA
	GCAACACGCT	TCAGAAGGCC	AGACAAACTC	TAGAATTTTA	CCCCTGCACT
	TCCGAAGAGA	TTGATCATGA	AGATATCACA	AAAGATAAAA	CCAGCACAGT
	GGAGGCCTGC	TTACCACTGG	AATTAGCCAT	GAATGAGAGT	TGCCTGGCTT
50	CCAGAGAGAT	CTCTCTGATA	ACTAATGGGA	GTTGCCTGGT	GTCCAGAAAG

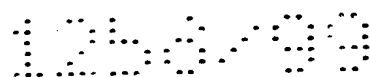


5 ACCTCTTTTA TGACGACCCT GTGCCTTAGC AGTATCTATG AGGACTTGAA
GATGTACCAG GTGGAGTTCA AGGCCATGAA TGCAAAGCTG TTAATGGATC
CTAAAAGGCA GATCTTTCTG GATCAAAACA TGCTGACAGC TATTGATGAG
CTGATGCAGG CCCTGAATTT CAACAGTGTG ACTGTGCCAC AGAACTCCTC
CCTTGAAGAA CCGGATTTTT ATAAAACTAA AATCAAGCTC TGCATACTTC
TTCATGCTTT CAGAATCCGT GCAGTGACCA TCAATAGAAT GATGAGCTAT
CTGAATGCTT CCTAGGAGCT CATAATCAGC CATAACCACAT TTGTAGAGGT
TTTACTTGCT TTAAAAAACC TCCCACACCT CCCCCTGAAC CTGAAACATA
AAATGAATGC AATTGTTGTT GTTAACTTGT TTATTGCAGC TTATAATGGT
10 TACAAATAAA GCAATAGCAT CACAAATTTC ACAAATAAAG CATTTTTTTC
ACTGCATTCT AGTTGTGGTT TGTCCAAACT CATCAATGTA TCTTAACGCG
AATTCAGGGG GAGACCCAAT TCGTAATCAT GGTCATAGCT GTTTCCTGTG
TGAAATTGTT ATCCGCTCAC AATTCCACAC AACATACGAG CCGGAAGCAT
AAAGTGTAAG GCCTGGGGTG CCTAATGAGT GAGCTAACTC ACATTAATTG
15 CGTTGCGCTC ACTGCCCGCT TTCCAGTCGG GAAACCTGTC GTGCCAGCTG
CATTAATGAA TCGGCCAACG CGCGGGGAGA GCGGTTTGC GTATTGGGCG C

20

SEQ ID NO 4 (IL-16):

TCTTCCGCTT CCTCGCTCAC TGA CTGCTG CGCTCGGTG TTCGGCTGCG
GCGAGCGGTA TCAGCTCACT CAAAGGCGGT AATACGGTTA TCCACAGAAT
CAGGGGATAA CGCAGGAAAG AACATGTGAG CAAAAGGCCA GCAAAGGCC
25 AGGAACCGTA AAAAGGCCGC GTTGCTGGCG TTTTCCATA GGCTCCGCCC
CCCTGACGAG CATCACAAAA ATCGACGCTC AAGTCAGAGG TGGCGAAACC
CGACAGGACT ATAAAGATAC CAGGCGTTTC CCCCTGGAAG CTCCCTCGTG
CGCTCTCCTG TTCCGACCCT GCCGCTTACC GGATACCTGT CCGCCTTTCT
CCCTTCGGGA AGCGTGCGC TTTCTCATAG CTCACGCTGT AGGTATCTCA
30 GTTCGGTGTA GGTCGTTTCG TCCAAGCTGG GCTGTGTGCA CGAACCCCCC
GTTACGCCCC ACCGCTGCGC CTTATCCGGT AACTATCGTC TTGAGTCCAA
CCCGGTAAGA CACGACTTAT CGCCACTGGC AGCAGCCACT GGTAACAGGA
TTAGCAGAGC GAGGTATGTA GGCGGTGCTA CAGAGTTCTT GAAGTGGTGG
CCTAACTACG GCTACACTAG AAGGACAGTA TTTGGTATCT GCGCTCTGCT
35 GAAGCCAGTT ACCTTCGGAA AAAGAGTTGG TAGCTCTTGA TCCGGCAAAC
AAACCACCGC TGGTAGCGGT GGTTTTTTTG TTTGCAAGCA GCAGATTACG
CGCAGAAAAA AAGGATCTCA AGAAGATCCT TTGATCTTTT CTACGGGGTC
TGACGCTCAG TGGAACGAAA ACTCACGTTA AGGGATTTTG GTCATGAGAT
TATCAAAAAG GATCTTCACC TAGATCCTTT TAAATTAAAA ATGAAGTTT
40 AAATCAATCT AAAGTATATA TGAGTAACT TGGTCTGACA GTTACCAATG
CTTAATCAGT GAGGCACCTA TCTCAGCGAT CTGTCTATTT CGTTCATCCA
TAGTTGCCTG ACTCCCCGTC GTGTAGATAA CTACGATACG GGAGGGCTTA
CCATCTGGCC CCAGTGCTGC AATGATACCG CGAGACCCAC GCTCACCGGC
TCCAGATTTA TCAGCAATAA ACCAGCCAGC CGGAAGGGCC GAGCGCAGAA
45 GTGGTCCTGC AACTTTATCC GCCTCCATCC AGTCTATTAA TTGTTGCCGG
GAAGCTAGAG TAAGTAGTTC GCCAGTTAAT AGTTTGCGCA ACGTTGTTGC
CATTGCTACA GGCATCGTGG TGTCAGGCTC GTCGTTTGGT ATGGCTTCAT
TCAGCTCCGG TTCCCAACGA TCAAGGCGAG TTACATGATC CCCCATGTTG



	TGCAAAAAAG	CGGTTAGCTC	CTTCGGTCCT	CCGATCGTTG	TCAGAAGTAA
	GTTGGCCGCA	GTGTTATCAC	TCATGGTTAT	GGCAGCACTG	CATAATTCTC
	TTACTGTCAT	GCCATCCGTA	AGATGCTTTT	CTGTGACTGG	TGAGTACTCA
	ACCAAGTCAT	TCTGAGAATA	GTGTATGCGG	CGACCGAGTT	GCTCTTGCCC
5	GGCGTCAATA	CGGGATAATA	CCGCGCCACA	TAGCAGAACT	TTAAAAGTGC
	TCATCATTGG	AAAACGTTCT	TCGGGGCGAA	AACTCTCAAG	GATCTTACCG
	CTGTTGAGAT	CCAGTTCGAT	GTAACCCACT	CGTGCACCCA	ACTGATCTTC
	AGCATCTTTT	ACTTTCACCA	GCGTTTCTGG	GTGAGCAAAA	ACAGGAAGGC
	AAAATGCCGC	AAAAAAGGGA	ATAAGGGCGA	CACGGAAATG	TTGAATACTC
10	ATACTCTTCC	TTTTTCAATA	TTATTGAAGC	ATTTATCAGG	GTTATTGTCT
	CATGAGCGGA	TACATATTTG	AATGTATTTA	GAAAAATAAA	CAAATAGGGG
	TTCCGCGCAC	ATTTCCCCGA	AAAGTGCCAC	CTGACGTCTA	AGAAACCATT
	ATTATCATGA	CATTAACCTA	TAAAAATAGG	CGTATCACGA	GGCCCTTTCG
	TCTCGCGCGT	TTCGGTGATG	ACGGTGAAAA	CCTCTGACAC	ATGCAGCTCC
15	CGGAGACGGT	CACAGCTTGT	CTGTAAGCGG	ATGCCGGGAG	CAGACAAGCC
	CGTCAGGGCG	CGTCAGCGGG	TGTTGGCGGG	TGTCGGGGCT	GGCTTAACTA
	TGCGGCATCA	GAGCAGATTG	TACTGAGAGT	GCACCATATG	CGGTGTGAAA
	TACCGCACAG	ATGCGTAAGG	AGAAAATACC	GCATCAGGCG	CCATTGCGCA
	TTCAGGCTGC	GCAACTGTTG	GGAAGGGCGA	TCGGTGCGGG	CCTCTTCGCT
20	ATTACGCCAG	CTGGCGAAAG	GGGGATGTGC	TGCAAGGCGA	TTAAGTTGGG
	TAACGCCAGG	GTTTTCCCAG	TCACGACGTT	GTAAAACGAC	GGCCAGTGCC
	AAGCTTGCGA	ATTCTGGATC	CGCTAGCTTA	ACCGTATTAC	CGCCATGCAT
	TAGTTATTAA	TAGTAATCAA	TTACGGGGTC	ATTAGTTCAT	AGCCCATATA
	TGGAGTTCCG	CGTTACATAA	CTTACGGTAA	ATGGCCCGCC	TGGCTGACCG
25	CCCAACGACC	CCCGCCCATT	GACGTCAATA	ATGACGTATG	TTCCCATAGT
	AACGCCAATA	GGGACTTTCC	ATTGACGTCA	ATGGGTGGAG	TATTTACGGT
	AAACTGCCCA	CTTGGCAGTA	CATCAAGTGT	ATCATATGCC	AAGTACGCCC
	CCTATTGACG	TCAATGACGG	TAAATGGCCC	GCCTGGCATT	ATGCCCAGTA
	CATGACCTTA	TGGGACTTTC	CTACTTGGCA	GTACATCTAC	GTATTAGTCA
30	TCGCTATTAC	CATGGTGATG	CGGTTTTTGGC	AGTACATCAA	TGGGCGTGGA
	TAGCGGTTTG	ACTCACGGGG	ATTTCCAAGT	CTCCACCCCA	TTGACGTCAA
	TGGGAGTTTG	TTTTTGGACC	AAAATCAACG	GGACTTTCCA	AAATGTCGTA
	ACAACGCCG	CCCATTGACG	CAAATGGGCG	GTAGGCGTGT	ACGGTGGGAG
	GTCTATATAA	GCAGAGCTGG	TTTAGTGAAC	CGTCAGATGG	TACCATGCCC
35	GACCTCAACT	CCTCCACTGA	TTCTACAAAC	TCGGCTTCTG	TGGCCAGCGA
	CGTTTCTGGG	GATTCCACGG	AGGCCACGGT	GCACACGGTG	ACGCTGGAGA
	AGACGTCCGC	GGGGCTGGGC	TTCAGCCTGG	AAGGCGGCAA	GGGCTCCCTG
	CTCGGGGACA	AGCCTCTCAC	CGTGAACAGG	ATTTTCAAAG	GGGCAGCCTC
	GGAACAGAGC	GAGACGATCC	AGCCGGGAGA	TGAAATCTTA	CACTTGGCCG
40	GCACTGCCGT	GCAGGGGCTC	ACGCGGTTTG	AAGCCTGGAA	CGTTATCAAG
	ACGTTGCCTG	ACGGCCCCGT	CACGATCGTC	ATCAGGAGGA	GAAGCGTCCA
	GTCCTCGGGA	ACCACAGCTG	CTGGAGACTC	CTAGGAGCTC	ATAATCAGCC
	ATACCACATT	TGTAGAGGTT	TTACTTGCTT	TAAAAAACCT	CCCACACCTC
	CCCCTGAACC	TGAAACATAA	AATGAATGCA	ATTCTTGTTG	TTAACTTGTT
45	TATTGCAGCT	TATAATGGTT	ACAAATAAAG	CAATAGCATC	ACAAATTTCA
	CAAATAAAGC	ATTTTTTTTCA	CTGCATTCTA	GTTGTGGTTT	GTCCAAACTC
	ATCAATGTAT	CTTAACGCGA	ATTTCGTAATC	ATGGTCATAG	CTGTTTCCTG
	TGTGAAATTG	TTATCCGCTC	ACAATTCCAC	ACAACATACG	AGCCGGAAGC
	ATAAAGTGTA	AAGCCTGGGG	TGCCTAATGA	GTGAGCTAAC	TCACATTAAT
50	TGCGTTGCGC	TCACTGCCCG	CTTTCCAGTC	GGGAAACCTG	TCGTGCCAGC

TGCATTAATG AATCGGCCAA CGCGCGGGGA GAGGCGGTTT GCGTATTGGG
CGC

5

SEQ ID NO 5 (CpG):

5'-GTTCTTCGGG GCGTTCTTTT TTAAGAACGC CCC

10

SEQ ID NO 6 (CpG):

5'-GAAGAACGTT TTCCAATGAT TTTTCATTGG AAAAC

15

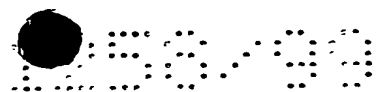
SEQ ID NO 7 (kodierende Sequenz für SEQ ID
NO 1, FIV env Gen)

5'-ATGG CAGAAGGATT TGCAGCCAAT AGACAATGGA TAGGGCCAGA
20 , AGAAGCTGAA GGGTTGTTAG ATTTTGATAT AGCAACACAA ATGAATGAAG
AAGGGCCACT AAATCCAGGA ATAAACCCAT TTAGGGTGCC TGGAATAGCA
GAAATAGAAA AGCGAGACTA TTGCAAAATA TTACAACCCA AATTACAAGA
TCTAAAGAAT GAAATTCAAG AGGTAAAAC TGAAGAAGGA AATGCAGGTA
AGTTTAGAAG AGCAAGATTT TTAAGATATT CTGATGAAAA TATATTATCC
25 CTGATTCATT TGTTTCATAGG GTATTGTACA TATTTATGCA GAAAAAATGA
GTTAGGATCT TTACGACATG ACATAGATAT AGACGAACAT CAAGAAGAGT
ATTATACTAG TATAGAGAAA GGTACAACCTG CCAATATAAA ATATGGTAGA
CGATGTCTCA TAGGAACAGC GGCTTTGTAC CTGCTTTTCA TAGGAATAAT
AATATATACA CAAACAACCA AGGCTCAGGT AGTATGGAGA CTTCCACCAT
30 TAGTAGTCCC CGTGAAAGAA TCAGAGATAA TTTTTTGGGA TTGTTGGGCA
CCAGAGGAAC CCGCCTGTCA GGACTTTCTT GGGGCAATGA TACATCTAAA
AGCTAGTACA AATATAAGTA TACAAGAGGG ACCTACCCTG GGGAAATTGGG
CTAGAGAAAT ATGGGGAACA TTATTCAAAA AGGCTACCAG ACAATGTAGA
AGAGGTAGAG TATGGAGAAG ATGGAATGAG ACTATAACAG GACCATCAGG
35 ATGTGCTAAT AACACATGTT ATAATATCTC AGTAATAGTA CCTGATTATC
AATGTTATTT AGACAGAGTA GATACTTGGT TACAAGGGAA AGTAAATATA
TCATTATGTC TAACAGGAGG AAAAATGTTG TATAATAAAT ATACAAAACA
ATTGAGCTAT TGTACAGATC CATTACAAAT CCCACTGATC AATTATACGT

5 TTGGACCTAA TCAAACATGT AAGTGGAAACA CTTCACAGAT TCAAGACTCT
GAGATACCAA AATGTGGATG GTGGAATCAA GCAGCCTATT ATAACAGTTG
TAGATGGGAA AGCACTGATG TAAAGTTTCA TTGTCAAAGA ACACAGAGTC
TGCCTGGAAC ATGGCTTAGA ACAATCTCAT CATGGAGGCC AAAGAATAGA
5 TGGGAATGGA GGCCAGATTT TGAAAGTGAA AAAGTGAAAG TATCTCTACA
GTGTAATAGC ACAAGCAACC TAACCTTTGC AATGAGAAGT TCAGGAGATT
ATGGAGAGGT AACGGGAGCA TGGATAGAAT TTGGATGTCA TAGGAAAAAA
TCAAAACTTC ATTCTGAAGC AAGGTTTAGA ATCAGATGTA GATGGGATAA
AGGGGATAAT ACCTCACTCA TTGATACATG TGGAAAAACT CAAAATGTTT
10 TAGGTGCAAA TCCTGTAGAT TGCACCATGT ATGCAAATAG AATGTATAAT
TGTTCCCTTAC AAAATGGGTT TACTATGAAG ATAGATGACC TTGTTATGCA
TTTCAATATG ACGAAAGCTG TAGAAATGTA TAACATTGCT GGAAATTGGT
CTTGTACATC TGACTTGCCA CCAACATGGG GGTATATGAA TTGTAATTGT
ACAAATAGTA GTAGTACAAC TAGTAGTTCT GGTAATAAAA TGGCATGTCC
15 TGGAGATAAA GGTATCTTAA GAAATTGGTA TAACCCAGTA GCAGGATTAA
GACAATCCCT AGAAAAGTAT CAAGTAGTAA AACAACCAGA TTACTTAGTG
GTGCCAGGGG AAGTCATGGA ATATAAACCT AGAAGGAAAA GAGCAGCTAT
TCATGTTATG TTAGCTCTTG CAACAGTATT ATCTATGGCC GGGGCAGGGA
CGGGGGCTAC TGCTATAGGG ATGGTAACGC AATATCACCA AGTTCTGGCA
20 ACTCATCAAG AAGCTATAGA AAAGGTGACT GAAGCCTTAA AGATAAACAA
CTTAAGATTA GTTACATTAG AGCATCAAGT ACTAGTAATA GGATTAAAAG
TAGAAGCTAT GGAAAAATTT TTATATACAG CTTTCGCTAT GCAAGAATTA
GGATGTAATC AAAATCAATT CTTCTGTAAA GTCCCTCCTG TGTTGTGGGA
AAGATATAAT ATGACTATAA ATCAAACAAT ATGGAATCAT GGAAATATAA
25 CTTTGGGGGA ATGGTATAAC CAAACAAAAG ATTTACAACA AAAGTTCTAT
GAAATAATAA TGGACATAGA ACAAATAAT GTACAAGGAA AAAAAGGGTT
ACAACAATTA CAAAATGGG AAGATTGGGT AGGATGGATA GGAAATATTC
CAAAATATTT ATAA

30 SEQ ID NO 8 (kodierende Sequenz für SEQ ID NO
2, IL-12 p40)

5'-ATGC ATCCTCAGCA GTTGGTCATC GCCTGGTTTT CCCTGGTTTT
GCTGGCACCT CCCCTCATGG CCATATGGGA ACTGGAGAAA AACGTTTATG
35 TTGTAGAGTT GGAAGTGGAC CCTGATGCCC CCGGAGAAAT GGTGGTCCTT
ACCTGCAATA CTCCTGAAGA AGATGACATC ACCTGGACCT CTGACCAGAG



CAGTGAAGTC CTAGGCTCTG GTAAAACTCT GACCATCCAA GTCAAAGAAT
TTGCAGATGC TGGCCAGTAT ACCTGTCATA AAGGAGGCGA GGTTCCTGAGC
CATTCGTTCC TCCTGATACA CAAAAAGGAA GATGGAATTT GGTCCACTGA
TATCTTAAGG GAACAGAAAG AATCCAAAAA TAAGATCTTT CTAAAATGTG
5 AGGCAAAGAA TTATTCTGGA CGTTTCACCT GCTGGTGGCT GACGGCAATC
AGTACCGATT TGAAATTCAC TGTCAAAAGC AGCAGAGGCT CCTCTGACCC
CCAAGGGGTG ACTTGTGGAG CAGCGACACT CTCAGCAGAG AAGGTCAGAG
TGGACAACAG GGATTATAAG AAGTACACAG TGGAGTGTCA GGAGGGCAGT
GCCTGCCCGG CTGCCGAGGA GAGCCTACCC ATTGAAGTCG TGGTGGACGC
10 TATTCACAAG CTCAAGTACG AAAACTACAC CAGCAGCTTC TTCATCAGGG
ACATCATCAA ACCGGACCCA CCCAAGAACC TGCAACTGAA GCCATTAAAA
AATTCTCGGC ATGTGGAAGT GAGCTGGGAA TACCCTGACA CCTGGAGCAC
CCCACATTCC TACTTCTCCT TAACATTTGG CGTACAGGTC CAGGGCAAGA
ACAACAGAGA AAAGAAAGAC AGACTCTCCG TGGACAAGAC CTCAGCCAAG
15 GTCGTGTGCC ACAAGGATGC CAAGATCCGC GTGCAAGCCA GGGACCGCTA
CTATAGCTCA TCCTGGAGCA ACTGGGCATC CGTGTCTCTG AGTTAG

SEQ ID NO 9 (kodierende Sequenz für SEQ ID

20 NO 3, IL-12 p35)

5'-ATGT GCCCGCCGCG TGGCCTCCTC CTTGTAACCA TCCTGGTCCT
GTAAACCAC CTGGACCACC TCAGTTTGGC CAGGAACCTC CCCACACCCA
CACCAAGCCC AGGAATGTTC CAGTGCCTCA ACCACTCCCA AACCTGCTG
25 CGAGCCATCA GCAACACGCT TCAGAAGGCC AGACAACTC TAGAATTTTA
CCCCTGCACT TCCGAAGAGA TTGATCATGA AGATATCACA AAAGATAAAA
CCAGCACAGT GGAGGCCTGC TTACCACTGG AATTAGCCAT GAATGAGAGT
TGCCTGGCTT CCAGAGAGAT CTCTCTGATA ACTAATGGGA GTTGCCTGGT
GTCCAGAAAG ACCTCTTTTA TGACGACCCT GTGCCTTAGC AGTATCTATG
30 AGGACTTGAA GATGTACCAG GTGGAGTTCA AGGCCATGAA TGCAAAGCTG
TTAATGGATC CTAAAAGGCA GATCTTTCTG GATCAAAACA TGCTGACAGC
TATTGATGAG CTGATGCAGG CCCTGAATTT CAACAGTGTG ACTGTGCCAC
AGAACTCCTC CCTTGAAGAA CCGGATTTTT ATAAACTAA AATCAAGCTC
TGCATACTTC TTCATGCTTT CAGAATCCGT GCAGTGACCA TCAATAGAAT
35 GATGAGCTAT CTGAATGCTT CCTAG

Unveränderliches Ex mplar
mulaire invariable
mplar immutabile

13

1050/99

SEQ ID NO 10 (kodierende Sequenz für SEQ

ID NO 4, IL-16)

5'-ATGC CCGACCTCAA CTCCTCCACT GATTCTACAA ACTCGGCTTC
5 TGTGGCCAGC GACGTTTCTG GGGATTCCAC GGAGGCCACG GTGCACACGG
TGACGCTGGA GAAGACGTCC GCGGGGCTGG GCTTCAGCCT GGAAGGCGGC
AAGGGCTCCC TGCTCGGGGA CAAGCCTCTC ACCGTGAACA GGATTTTCAA
AGGGGCAGCC TCGGAACAGA GCGAGACGAT CCAGCCGGA GATGAAATCT
TACTTGGC CGGCACTGCC GTGCAGGGGC TCACGCGGTT TGAAGCCTGG
10 AACGTTATCA AGACGTTGCC TGACGGCCCC GTCACGATCG TCATCAGGAG
GAGAAGCGTC CAGTCCTCGG GAACCACAGC TGCTGGAGAC TCCTAG

THIS PAGE BLANK (USPTO)